ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE

DE LYON

Année 1981 - N. 62

CALICIVIROSE FÉLINE

Contribution à l'étude de la croissance de la souche F.C.V. 255 et à la réalisation d'une épreuve virulente sur chatons.

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard de LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 12 novembre 1981

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Sylvie MARTIN

née le 19 juin 1956

à VICHY (03)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554221_0036

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE

DE LYON

Année 1981 - N. 62

CALICIVIROSE FÉLINE

Contribution à l'étude de la croissance de la souche F.C.V. 255 et à la réalisation d'une épreuve virulente sur chatons.

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard de LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 12 novembre 1981

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Sylvie MARTIN

née le 19 juin 1956

à VICHY (03)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

1.09.1981

ETAT DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT EN FONCTION A L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Directeur : Professeur Philippe COTTEREAU

CHAIRES	Professeurs	Professeurs sans Chaire	Maîtres de Conférences	Maîtres Assistants Agrégés	Maîtres Assistants	Assistants
Alimentation	M. JEAN-BLAIN	-	-	-	-	M. GRANCHER
Anatomie	M. BARONE	-	-	-	M. DENOIX	M. SARSAT
Chirurgie	M. COULON	M. LE NIHOUANNEN	-	-	M. FAU	Mlle BERTHELET
Histologie - Anatomie Pathologique	M. TISSEUR	M. GASTELLU	-	-	-	Mme GRANCHER-WATRELOT
Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale	M. CHANTEGRELET	-	-	-	M. DEMONT	
Maladies contagieuses	M. JOUBERT	M. PRAVE	-	-	M. CHOMEL	M. DUCLOS
Parasitologie	M. EUZEBY		M. GEVREY	-	Mme CHAUVE	M. NGO TAN Hur
Pathologie Générale - Microbiologie - Immunologie	M. OUDAR	-	M. RICHARD	-	Mme GUERIN	M. GUERIN
Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour	M. COTTEREAU	-	Mme BRUGERE	-	M. THIN	Mlle VIALLARD
Pathologie médicale des équidés et des carnivores	M. FONTAINE	M. LAPRAS	-	M. LEGEAY	-	M. BOUVIER
Pathologie de la reproduction	M. BERTRAND	M. DESCHANEL	-	-	Mme BACHAIL	M. NODET
Pharmacie-Toxicologie	M. LORGUE	-	M. KECK	-	M. JAUSSAUD	Mme PEPIN-RICHARD
Physiologie	M. BOST	M. BOIVIN	-	-	-	M. THIEBAULT
Physique-Chimie	M. DELATOUR	-	-	-	M. GARNIER	Mlle MARTIN
Zootechnie	M. FROGET	M. FRANCK	-	-	Mme GRAIN	Mme LEFEBVRE/LENOIR

A mes parents

en témoignage de mon infinie reconnaissance pour les sacrifices qu'ils ont consentis et de toute mon affection.

A mon frère

pour le soutien qu'il m'apporte et pour notre compréhension mutuelle.

A toute ma famille

A tous mes amis

A tous nos maîtres

A notre Président de thèse

Monsieur le Professeur BERTOYE
de la Faculté de Mixte de Médecine et de
de Pharmacie de Lyon, qui nous a fait l'honneur
d'accepter la présidence de notre jury de thèse.
Hommages respectueux.

A notre jury de thèse

Monsieur le Professeur FONTAINE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
qui a bien voulu accepter un travail initial
et qui nous a permis de le développer.
Nous le prions de croire à notre sincère
gratitude et à notre profonde estime.

Monsieur le Professeur GASTELLU
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
qui a personnellement contribué à la partie
histopathologie et nous a patiemment aidée.
Qu'il veuille bien agréer, avec l'assurance
de notre respect le témoignage de notre
reconnaissance.

A Monsieur le Professeur DELATOUR
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

qui nous a permis de participer à ce travail.
Sincères remerciements.

A Monsieur le docteur CHAPPUIS
de l'IFFA-Mérieux

qui nous a inspiré ce travail, nous a assuré
les moyens de le réaliser et qui nous a fait
bénéficier généreusement de son expérience en
Virologie.
Nous lui exprimons notre très profonde gratitude.

A tous ceux qui nous ont aidé

INTRODUCTION

La pathologie féline d'origine infectieuse est dominée par la Panleucopénie et les maladies respiratoires.

Les instituts producteurs ont résolu le problème de la leucopénie infectieuse par la mise au point d'un vaccin d'une grande efficacité.

Actuellement les affections respiratoires constituent une dominante épidémiologique ; c'est pourquoi des recherches sont réalisées en vue de développer une prophylaxie médicale.

Au cours des vingt dernières années les différents agents étiologiques de ces affections respiratoires furent isolés et identifiés. Ainsi un herpès virus agent de la rhinotrachéite et un calicivirus sont responsables de 80 % des cas de coryza.

Désormais les vaccins officiellement autorisés doivent répondre à des normes précises. La mise au point d'un contrôle d'activité directe se heurte à un certain nombre de problèmes :

- la recherche de virus susceptibles de constituer un matériel d'épreuve dans un contrôle d'activité vaccinale
- la mise au point d'un système de quantification des manifestations cliniques et lésionnelles entraînées par ce virus.

Il nous a été permis de participer à la mise au point d'une épreuve sur chatons dans le cas des Calicivirus dont nous rapportons ici les résultats.

Nous diviserons notre propos en deux parties :

- la première, bibliographique, rassemble les données concernant la virologie, la clinique, l'épidémiologie et la prophylaxie.
- Pour mieux situer l'objet de notre travail, l'introduction de la deuxième partie rappellera ce que l'on admet à l'heure actuelle comme normes de contrôle de la qualité d'un vaccin.

Puis nous envisagerons la production d'une souche d'épreuve de Calicivirus,et enfin les résultats de l'inoculation de ce virus à des chatons virus free, cela d'un point de vue symptomatologique, lésionnel, virologique, sérologique et histologique.

PREMIERE PARTIE

A - HISTORIQUE

- 1957 FASTIER (8) isole à partir d'un chat malade un virus qui, inoculé à des cellules épithéliales de rein de chaton mis en culture, produit un effet cytopathique intense et rapide, sans l'apparition d'inclusions intracellulaires. Il le nomme KCD virus (Kidney Cell Degenerating virus). Il met en évidence l'absence d'hémagglutination ainsi que la faible virulence du germe. Toutes ses caractéristiques permettent de rapprocher ce virus d'un Coxsackie humain.

- 1957 BOLIN (1) isole de la rate d'un chat malade, un virus à l'aide duquel il croit reproduire un typhus. Il en fait l'agent responsable de la panleucopénie alors qu'il s'agit d'un Picornavirus virulent.

- 1960 CRANDELL et MADIN (7) isolent un virus à partir du sang et de la gorge d'une chatte de 9 semaines atteinte d'une affection respiratoire très grave. Ils ont retenu comme symptômes : l'hyperthermie, la polypnée : 43 à 50 mouvements respiratoires par minute, des râles pulmonaires, l'anorexie, la léthargie, la raideur musculaire, l'hypersensibilité. Ils nomment cet agent le CFI (California Feline Isolate). L'ECP (effet cytopathique) observé est identique à celui du KCD virus de FASTIER.

Ils reproduisent expérimentalement la maladie. Comme CRANDELL et MAURER avaient isolé le virus de la rhinotrachéite féline en 1958, ils ont pu constaté la différence d'ECP et par séroneutralisation, révèler l'absence de communauté antigénique entre ces deux virus.

- 1965 BURKI (2) classe le virus de CRANDELL et MADIN parmi les Picornavirus en position intermédiaire entre les Entéro- et le Rhinovirus mais plus proche des Rhinovirus et en particulier du virus de la fièvre aphteuse.

- 1971 WILDY réunit les Picornavirus félins et le virus de l'exanthème vésiculeux du porc dans le genre CALICIVIRUS, dans la famille des PICORNAVIRIDAE.

- 1972 PETERSON et STUDDERT étudient la morphologie des Calicivirus félins.

- 1972 des Calicivirus sont isolés chez les Pinnipèdes. L'hypothèse de l'origine marine des Calivirus a été avancée ; en effet les produits de la pêche entrent souvent dans la chaîne alimentaire de nos chats domestiques. Les FCV infecteraient probablement tous les Félidés.

La répartition mondiale, l'importance médicale et économique ont été démontrées.

Les études portent désormais sur la clinique, l'épidémiologie, la reproduction expérimentale de la maladie et les vaccins.

Famille des PICORNAVIRIDAE d'après MELNICK 1978 (21)

Genre / Hôte	ENTEROVIRUS	RHINOVIRUS	CARDIOVIRUS	APHTOVIRUS	CALICIVIRUS *
HOMME	POLIOVIRUS (3 types antigéniques) COXSACKIE VIRUS 24 types antigéniques A et 6 " " B ECHOVIRUS 35 types antigéniques				
EQUIDES		RHINOVIRUS 1 RHINOVIRUS 2			
RUMINANTS	ENTEROVIRUS Bovins	RHINOVIRUS bovins		FIEVRE APHTEUSE 7 types : O,A,C, SAT_1, SAT_2, SAT_3, Asia	
PORC	ENTEROVIRUS porcins Maladie de Teschen-Talfan Maladie vésiculeuse des suidés				Exanthème vésiculeux type A
CARNIVORES					CALICIVIRUS félins
PINNIPEDES					San Miguel Sealion Virus
RONGEURS			Encéphalomyélite de la souris (virus EMC encéphalomyocardite)		
OISEAUX	Encéphalomyélite aviaire Hépatite du canard				
ABEILLES	Maladie noire, maladie du couvin sacciforme				

* L'I.C.T.V. (International Committee for Taxonomy of Viruses) n'a pas encore accepté en 1978 de créer la famille des CALICIVIRIDAE (MELNICK 1978 (21)).

B - VIROLOGIE

1 - Morphologie

Les Calicivirus félins sont de très petits virus de 36 à 40 nm de diamètre (plus grands cependant que les Picornavirus : 22 à 27 nm) et de forme grossièrement sphérique. Leur surface comporte des points sombres de 10 nm de diamètre, qui correspondent à des dépressions en forme de coupe de la surface des virus, desquelles ils tirent leur nom.

ALMEIDA cité par STUDDERT 1978 (32) considère que la structure du virus est simple : le core central est entouré d'une seule capside constituée de 32 unités de structure disposées en icosaèdre, avec 20 hexons et 12 pentons. Les Calicivirus ne sont pas enveloppés.

Si on désigne par le terme de"posimer"les capsomères formés par le groupement d'unités de structure, on peut utiliser celui de "hégamère" pour exprimer l'absence de cohésion entre les unités de structure, qui apparaissent alors comme une zone vide en forme de coupe. Les Calicivirus seraient donc composés de 32 négamères et se présentent comme un core de 20 nm de diamètre entouré par un manteau de faible densité aux limites imprécises.

2 - Propriétés physico-chimiques

- Virus à RNA monocaténaire, non segmenté, de 3 x 10^6 daltons(D).
- La protéine de structure comporte un seul polypeptique dit "polypeptide majeur" ce qui distingue fondamentalement les Calicivirus des autres Picornaviridae qui comportent 4 polypeptides de structure. Le poids moléculaire du polypeptide majeur est de 60 à 65.000 D.
- La densité du virion dans le chlorure de Césium varie de 1,37 à 1,40 g/ml.
- Le pic d'absorption dans l'ultraviolet est situé à 1,53 - 1,54 (E 260 / E 280).

- Les Calicivirus ne sont pas inactivés par les solvants des lipides.

- Ils sont inactivés lorsqu'on les chauffe à 50°C pendant 30 minutes, même en présence de $MgCl_2$ en concentration molaire.

- Ils résistent 2 semaines dans un milieu humide et 1 semaine en milieu sec.

- Ils sont stables à pH_4 et inactivés à pH_3. Ils ont donc une stabilité intermédiaire entre les rhinovirus, le virus de la fièvre aphteuse (très labile) et les entérovirus (stables à bas pH).

- Ils sont dépourvus de tout pouvoir hémagglutinant.

3 - Réplication

3.1. Cellules hôtes

Chez le chat, hôte spécifique du FCV (Feline Calicivirus), les virus se multiplient dans les cellules épithéliales des muqueuses respiratoires, digestives et même rénales.

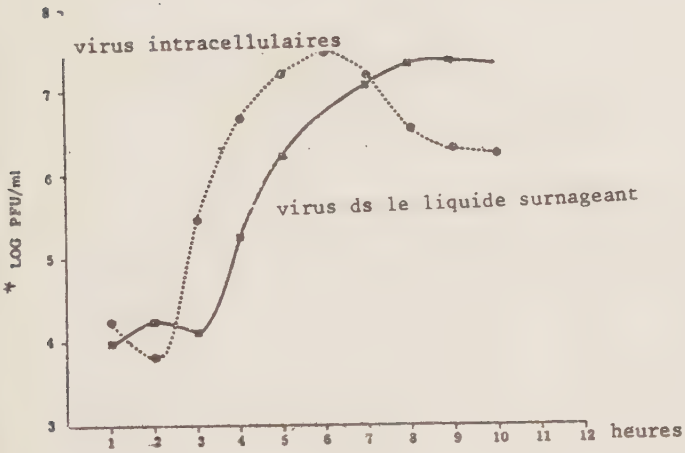
Expérimentalement, les FCV ne cultivent ni sur embryon de poulet, ni chez les autres espèces de laboratoire. STUDDERT (32) n'a pas obtenu la réplication des FCV en utilisant des systèmes cellulaires d'origine ovine, bovine et de hamster.

C'est à peine si quelques cultures cellulaires d'espèces hétérologues mais voisines, permettent la croissance des FCV, contrairement à ce qui se passe pour les autres Picornaviridae BURKI 1971 (3).

Les FCV cultivent donc essentiellement sur cellules d'origine féline : cellules primaires, secondaires ou de lignées continues. On peut utiliser des cellules rénales, des cellules thymiques, cellules de l'épithélium lingual, des cellules de la trachée, des cellules issues de neurofibrosarcome.

3.2. Courbe de croissance

Schéma de STUDDERT 1978 (32)



* LOG PFU/ml = Logarithme en unités formant plages

Courbe de croissance du FCV dans les cellules embryonnaires de rein de chat. STUDDERT 1978 (32).

La réplication des FCV est rapide.

Le titre maximum de virus intracellulaire est atteint au bout de 6 heures.

La lyse cellulaire suit très rapidement.

Le titre maximum de virus extracellulaire est atteint au bout de 8 heures.

3.3. Effet cytopathique (E.C.P.)

Les Calicivirus produisent très rapidement un effet cytolytique; ce qui permet d'expliquer que des inclusions n'aient pas de temps d'apparaître. (L'effet cytolytique apparaît d'autant plus vite que le titre de l'inoculum viral est plus élevé).

6 heures après l'inoculation, le premier changement se manifeste en des zones où les cellules se rétractent, s'arrondissent et deviennent réfringentes. Le nombre de foyers augmente rapidement.

Le noyau devient picnotique, il y a éventuellement caryolyse. Par des méthodes plus fines, on constate que la condensation de la chromatine apparaît associée à la picnose alors que la fragmentation de la chromatine coïncide avec la lyse cellulaire.

Le cytoplasme gonfle avec le temps. Il semble bulleux. L'utilisation d'Ac (Anticorps) fluorescents permet de localiser la fluorescence uniquement dans le cytoplasme. L'Ag (antigène) viral est présent dans les bulles du cytoplasme.

3.4. Comparaison des E.C.P. des principaux virus responsables d'affections respiratoires chez le chat d'après KAHN et GILLESPIE 1970 (13).

- Herpès

  Formation de cellules géantes multinucléées, de syncitiums, présence d'inclusion intranucléaire de Cowdry de type A.

- Réovirus

  Dégénérescence cytopathique lente et progressive.
  Présence d'inclusions cytoplasmiques paranucléaires.

- Picornavirus

  E.C.P. rapide et progressif.
  Pas d'inclusions.
  Développement de matériel fibrillaire intracytoplasmique. Cellules qui s'arrondissent et se détachent.

3.5. Observations au microscope électronique de cellules infectées par les F.C.V. d'après LOVE et SABINE 1975 (20).

3.5.1. Ultrastrure des cellules infectées

. Le premier changement a lieu dans le noyau au cours des deux premières heures qui suivent l'infection. Il concerne tous les constituants du noyau :

- la chromatine forme des mottes qui se localisent le long de la membrane nucléaire (margination)
- le noyau dégènère
- la membrane nucléaire présente des zones de prolifération, de distorsion, de dilatation. Souvent on observe une distension entre les deux couches de la membrane nucléaire.

. Les altérations du Golgi précèdent les autres altérations cytoplasmiques. On voit apparaître des zones comportant des vésicules au contenu dense, entourées d'une membrane simple ou double. Elles contiennent un matériel finement granuleux. Leur nombre augmente avec le temps.

3.5.2. Assemblage des particules virales.

. Les particules virales peuvent se présenter sous forme d'arrangements paracristallins, mais en faible proportion. (Les virions sont alors soit au stade de virions complets soit de virions incomplets).

. Une image courante est celle de particules virales associées à un matériel fibrillaire à proximité de grandes vacuoles ou de la membrane limitante de la cellule.

. On rencontre également des particules virales complètes ou incomplètes dans des citernes membranaires. Ces citernes sont retrouvées dans presque toutes les cellules dans lesquelles il y a des particules virales et semblent donc correspondre au site d'accumulation des particules virales. L'association de vésicules et de particules virales est également décrite dans le

cas des POLIOVIRUS humains et comme pour la réplication des Poliovirus, l'association du RNA viral avec ces structures est probablement nécessaire à la réplication des F.C.V.

. On a également vu des particules virales éparpillées dans le cytoplasme individuellement ou en petits groupes.

. Dans un petit nombre de cellules enfin, le virus était associé à des membranes cytoplasmiques lisses ayant proliféré discrètement.

3.5.3. Relargage du virus

On a vu du virus extracellulaire dans les vacuoles, elles-mêmes solidement associées aux membranes des citernes.

Il est également possible que les virus quittent la cellule à la faveur d'une lyse partielle et en association avec le matériel fibrillaire.

Les particules virales peuvent aussi s'écouler des citernes par rupture des membranes limitantes.

3.5.4. Conclusion

Les arrangements paracristallins sont caractéristiques des Picornaviridae.

Les régions fibrillaires sont des sites possibles d'assemblage et de relargage.

Les citernes seraient des sites d'assemblage. Le relargage pourrait avoir lieu par rupture des membranes.

Les membranes lisses seraient aussi des sites d'assemblage. Le relargage se ferait par les tubules.

4 - Pouvoir immunigène

L'inoculation de Calicivirus à des chats se traduit par un retentissement clinique et sérologique : le pouvoir antigénique du virus provoque l'apparition d'anticorps neutralisants dont on peut suivre la cinétique in vitro.

Expérimentalement, il est démontré que l'inoculation d'une autre souche de Calicivirus pathogènes, 35 jours après une première inoculation, n'entraîne pas de manifestation clinique. Donc les Calicivirus sont dotés d'un pouvoir immunogène qui assure de plus une protection croisée. Celle-ci permet également de classer les différentes souches de Calicivirus.

Dans une population féline, le passage de Calicivirus est suivi d'une trace sérologique ainsi que d'une protection immunitaire.

Enfin, la vaccination fait apparaître des anticorps séroneutralisants. Mais il n'existe pas forcément de corrélation entre ce type d'anticorps décelés in vitro et la protection effective. En effet, même avec des titres en anticorps séroneutralisants pratiquement nuls, il existe encore une protection longtemps après la vaccination.

Remarque : le pouvoir allergène n'a pas été démontré.

5 - Tentatives de classification des souches de Calicivirus félins.

Différents paramètres sont utilisables, mais la sérologie est la plus intéressante.

5.1. Classification d'après la pathogénicité

HOOVER et KAHN 1973 (12)

Il existe toute une gradation entre des souches virulentes et des souches très pathogènes.

5.2. Classification d'après la morphologie des plages

ORMEROD, JARRETT 1978 (22) distinguent des plages minutes, des petites plages, des grandes plages, des plages extralarges. A l'heure actuelle, ils essaient de relier la taille des plages avec la pathogénicité du virus.

5.3. Classification d'après le tropisme tissulaire apparent WARDLEY et POVEY 1977 (37).

5.4. Classification d'après l'antigénicité

Une classification sérologique permet d'une part des études épidémiologiques, d'autre part de reconnaître les virus vaccinaux et d'apprécier leur capacité de protection.

5.4.1. Comparaison de la Séroneutralisation, de la Fixation du Complément et de l'Immunofluorescence. POVEY 1974 (27

La séroneutralisation donne des résultats réguliers. Elle permet d'observer des variations antigéniques considérables entre les F.C.V. en même temps que des réactions croisées importantes.

La fixation du complément et l'immunofluorescence montrent des réactions croisées trop importantes.

POVEY considère les différentes souches isolées comme des variants antigéniques d'un sérotype unique

5.4.2. Utilisation de l'index de neutralisation pour établir les relations de parenté-dominance entre différentes souches de F.C.V. CHAPPUIS et STELLMANN 1974 (5).

En utilisant le système biomathématique mis au point par STELLMANN, ils identifient la souche dominante qui sera utilisée comme souche vaccinale.

5.4.3. Classification selon des bases internationales des Calicivirus félins BURKI, STARUSTKA et RUTTNER 1976 (4).

L'originalité de leur travail consiste à employer rigoureusement 20 Unités Anticorps pour chacun des antisérums spécifiques. La séroneutralisation est alors beaucoup plus sensible.

Pratiquement, ils ont mis en évidence une souche qui neutralise nombre d'autres souches et constitue une souche de choix comme antigène vaccinal à usage européen.

Enfin, en s'appuyant sur la définition du Comité des Rhinovirus, ils démontrent qu'aucune souche ne constitue un sérotype séparé.

Remarque : pour tenter d'expliquer l'hétérogénéité antigénique, on invoque l'existence d'une ou de plusieurs régions hautement mutables dans le gène qui code pour l'unique polypeptide de la capside. STUDDERT 1978 (32).

C - CLINIQUE

1 - Définition

Les caliciviroses sont des affections respiratoires généralement bénignes.

Elles évoluent selon un mode souvent subclinique mais aussi aigu ou subaigu. La gravité dépend de la souche de Calicivirus en cause.

Elles sont caractérisées par :

de l'hyperthermie

une atteinte des muqueuses de la tête : sous forme de vésicules qui s'ulcèrent par la suite.

Certaines souches particulièrement virulentes sont responsables de pneumonie.

La morbidité est très élevée.

La mortalité est faible.

Le portage et l'excrétion prolongée de virus chez des animaux convalescents sont fréquents.

2 - Symptômes

2.1. Incubation

3 à 5 jours dans les conditions naturelles.

2.2. Hyperthermie

Lorsque GILLESPIE et SCOTT 1973 (11) inoculent un Calicivirus par aérosolisation, la plupart des chatons ont une réponse thermique biphasique.

Le pic initial apparaît le 1er jour après l'épreuve, il dépasse 40°3 C. La réponse initiale est brève.

Le 2ème pic se situe entre le 4ème et le 7ème jour après l'inoculation.

Les chats sévèrement affectés deviennent souvent hypothermiques le 3ème ou le 4ème jour après l'inoculation. On ne relève pas de modifications sanguines, si ce n'est la lymphopénie le jour de l'inoculation. Pour KAHN et HOOVER 1976 (16), l'hyperthermie apparaît 1 à 2 jours après l'infection et dure 3 à 5 jours. Elle est accompagnée d'inappétence ou d'anorexie, de léthargie, d'hyperesthésie et de raideur musculaire.

2.3. Atteinte des muqueuses de la tête

d'après GILLESPIE et SCOTT 1973 (11)

2.3.1. Signes oculaires

Très précocément, on voit apparaître une conjonctivite (il s'agit d'un léger érythème de la conjonctive) souvent unilatérale. Chez quelques chatons, elle s'accompagne de photophobie.

Un écoulement séreux puis muqueux est souvent observé.

2.3.2. Signes nasaux

Les rhinites sont fréquentes.

Les écoulements d'abord séreux puis mucoïdes et mucopurulents, accompagnés d'éternuements sont très marqués le 6ème jour mais disparaissent le 10ème jour.

2.3.3. Signes oraux

Les jours qui suivent l'inoculation, on observe de l'hypersalivation qui précède la formation de vésicules qui, elles-mêmes s'ulcèrent dès le 4ème jour. Les ulcères rouges et superficiels,de 5 à 10 mm de diamètre, sont localisés au niveau de la langue, du palais dur, des lèvres et de la muqueuse naso-buccale.

PASTORET et coll. 1977 (24) observent des ulcères de la muqueuse qui recouvre l'angle temporo-maxillaire. Ils expliquent ainsi l'extrême douleur à l'ouverture de la cavité buccale et justifient donc la sédation nécessaire pour l'examen clinique.

D'après POVEY 1977 (28), le ou les grandes vésicules puis les ulcères situés sur le bord rostradorsal de la langue sont

caractéristiques de l'infection à Calicivirus chez le chat. Les autres ulcères buccaux ne sont pas spécifiques.

2.4. Symptômes pulmonaires

Si les souches à faible virulence produisent seulement des lésions des muqueuses de l'appareil respiratoire supérieur, les souches à forte virulence présentent en plus un pneumotropisme marqué. Les chatons sont alors atteints d'alvéolite séreuse évoluant vers une pneumonie interstitielle.

2.5. Autres symptômes

Les entérites sont occasionnelles.

Chez les proteurs, on a pu observer des gingivites chroniques et des pharyngites persistantes avec une hyperplasie lymphoïde fréquente. Cependant, la relation avec l'agent causal n'a pas été démontrée. POVEY 1977 (28).

POVEY a constaté également des érosions des pattes.

Les Calicivirus ont été incriminés dans l'urolithiase du chat. Ils cèdent la place principale au virus syncitial félin.

2.6. Durée de l'affection virale pure :

5 à 7 jours KAHN et HOOVER 1976 (16)
7 à 10 jours POVEY 1977 (28).

2.7. Mortalité

Le pronostic est généralement favorable dans le cas des caliciviroses (alors que la mortalité est élevée dans la rhinotrachéite).

Cependant chez les chatons, la mortalité peut atteindre 30 %. Expérimentalement elle est située au cours des 2 semaines après l'inoculation, dont plus de la moitié dans les cinq premiers jours.

Cette mortalité en phase aiguë est observée chez des chatons de moins de 12 semaines.

2.8. Conclusion

Les affections respiratoires à Calicivirus du chat peuvent s'exprimer selon plusieurs modalités qui dépendent de la souche virale, de l'âge de l'animal et des surinfections bactériennes.

Des sérologies positives chez des chats non vaccinés et qui n'ont pas présenté de coryza, indiquent que la Calicivirose est très fréquemment infraclinique.

Dans la plupart des cas, les symptômes se limitent à des écoulements nasal et oculaire.

Certaines souches très virulentes sont responsables de pneumonies.

De plus, des surinfections bactériennes peuvent masquer l'expression initiale.

Enfin, les calicivirus associés aux virus de la panleucopènie et de la rhinotrachéite potentialisent réciproquement leurs effets.

En résumé, si le diagnostic étiologique est théoriquement possible lors d'une expression complète des symptômes, il est le plus souvent du ressort du laboratoire.

Remarque : Existe-til des caliciviroses chez l'homme ?

Des particules virales ressemblant à des Calicivirus ont été détectées en microscopie électronique dans des préparations de fécès d'enfant après coloration négative.

Des cellules de singe Rhésus, des cellules primaires d'amnios humain, des cellules fœtales de chaton, n'ont pas permis la croissance de cet agent.

Aucune signification clinique définie n'a pu être rattachée à ces particules. STUDDERT 1978 (32).

3 - Lésions

3.1. Lésions des tissus et organes situés aux portes d'entrée du virus ; d'après HOOVER et KAHN 1973 (12).

3.1.1. Muqueuse nasale et trachée

La muqueuse du sinus maxillaire présente le 7ème et le 14ème jour des infiltrats sous-épithéliaux de neutrophiles et des agrégats folliculaires de lymphocytes et de plasmocytes.

L'épithélium nasal ne se nécrose pas.

Aucune lésion microscopique n'est détectée dans la trachée.

3.1.2. Philtrum et base des narines

On peut observer des lésions ulcératives soit macroscopiques soit microscopiques.

L'accumulation d'exsudat séropurulent sèché associé à la nécrose de l'épithélium forme une lésion crustacée qui ressemble à une excoriation traumatique.

3.1.3. Cavité buccale

Les ulcères de la muqueuse linguale de 2 à 5 mm de diamètre, apparus dès le 4ème jour, sont bilatéraux et se situent sur la partie antérieure de la langue.

A l'histologie, on observe de la nécrose, la disparition de l'épithélium des papilles linguales et une inflammation secondaire.

On constate également dès le 4ème jour, des ulcères irréguliers du palais dur de 2 à 8 mm de diamètre.

On ne peut détecter qu'à l'échelle microscopique des érosions et une infiltration par des neutrophiles des cryptes tonsillaires WARDLEY et POVEY 1977 (37).

3.1.4. WARDLEY et POVEY 1977 (37) ont constaté l'hypertrophie des nœuds lymphatiques mandibulaires et parotidiens.

3.1.5. Conclusion

Il n'y a pas de lésions pathognomoniques.

Les lésions de toutes les muqueuses atteintes sont identiques : il n'y a de nécrose de l'épithélium, parfois exsudation, et enfin infiltration par des neutrophiles.

3.2. Lésions pulmonaires observées par HOOVER et KAHN 1973 (12).

3.2.1. Autopsie les jours 2 et 4.

Initialement, la principale lésion est une alvéolite multifocale, qui se manifeste macroscopiquement par de nombreuses élevures rouge brillant en hépatisation, mesurant 0,5 à 2,5 cm de diamètre.

Ces lésions peuvent apparaître soit comme de discrets foyers circulaires et circonscrits, répartis sur tout le poumon soit de façon plus diffuse, comme des zones triangulaires localisées à la face ventrale des lobes apicaux ou cardiaques.

Au microscope, l'atteinte du poumon est limitée aux structures terminales : les bronchioles respiratoires, les canaux alvéolaires et les alvéoles. Il n'y a pas de lésion de la muqueuse des bronches ni des bronchioles.

* La première modification microscopique observée est :

une congestion des capillaires alvéolaires
une infiltration par des neutrophiles du septum interalvéolaire
de la picnose ou une hypertrophie des pneumocytes alvéolaires et des cellules mésothéliales pleurales.

* Le 2ème jour, on détecte
un exsudat séreux et riche en neutrophiles dans l'alvéole
une extrême congestion des capillaires alvéolaires avec des hémorragies focales,

une nécrose complète de certains septums inter-alvéolaires,

à côté de ces foyers d'exsudation aiguë, il y a un œdème péribronchique et périvasculaire.

L'exsudat abondant associé à l'œdème péribronchique provoque la formation de bouchons dans les conduits aériens responsables des lésions d'emphysème et d'atelectasie observés 10 jours après l'infection. La plèvre est sévèrement inflammée en face des zones de pneumonie (vascularite et thrombose).

* Le 4ème jour, l'exsudat modéré comporte des macrophages de grande taille dans l'alvéole, en plus de neutrophiles.

Le septum interalvéolaire commence à s'épaissir modérément à cause de l'œdème et de l'infiltration par des neutrophiles et des macrophages.

3.2.2. Autopsies les jours 7, 10 et 14

L'élément prédominant de cette période est la pneumonie interstitielle qui se surimpose à la résolution de l'exsudat alvéolaire.

L'apparence macroscopique n'a pas changé. Les zones d'hépatisation atteignent 1 à 3,5 cm et deviennent violacées ou gris rouge. Elles sont toujours circulaires mais beaucoup plus irrégulières.

L'histologie est caractérisée par la prolifération adénomateuse de grandes cellules cuboïdales ou arrondies, qui sont des pneumocytes alvéolaires de type II.

L'exsudat purulent en résolution persiste mais il est constitué pour l'essentiel de macrophages alvéolaires.

3.2.3. Autopsie les jours 14 et 22

C'est la période de résolution de la pneumonie interstitielle avec quelques traces d'exsudation.

Macroscopiquement, les lésions sont moins nombreuses et sont constituées de foyers irréguliers gris, hépatisés, de 0,5 à 1,5 cm.

L'augmentation de l'épaisseur des septum interalvéolaires semble due, moins à la prolifération adénomateuse des pneumocytes qu'à l'accumulation dans l'interstitium de cellules mononucléées. On peut reconnaître des foyers de lymphocytes et de plasmocytes localisés autour des bronchioles situées dans les zones de pneumonie.

3.2.4. Le tissu pulmonaire redevient morphologiquement normal le 22ème jour (sauf des foyers résiduels en état de résolution).

3.3. Morphogénèse à l'échelle ultrastructurale de la pneumonie aigue à Calicivirus d'après LANGLOSS et HOOVER 1978 (17).

Il y a deux aspects à retenir dans la morphogénèse.

3.3.1. Le tropisme particulier du F.C.V. 255 pour les pneumocytes alvéolaires qui conforte le récent concept de "diffuse alveolar damage" (D.A.D.) comme réponse à une atteinte des structures tout à fait terminales de l'appareil respiratoire (cette particularité est retrouvée dans la grippe humaine). La réponse inflammatoire qui en résulte est limitée aux bronchioles, aux canaux alvéolaires et aux alvéoles, elle épargne les voies aériennes principales (les bronches).

3.3.2. La pathogénie comporte deux phases :

3.3.2.1. Une phase exsudative qui dure de la 12ème à la 96ème heure après l'infection. Elle est caractérisée par :

- la nécrose des pneumocytes de type I (le cytoplasme des pneumocytes atteints présente des arrangements paracristallins qui correspondent à des particules de FCV.)

- le dénument presque complet de la membrane basale qui demeure elle-même intacte.
- la congestion des capillaires alvéolaires.
- une exsudation sérofibrineuse intense.
- une diapédèse précoce de neutrophiles qui résulte de l'élaboration de facteurs chimiotactiques par les pneumocytes infectés et les macrophages alvéolaires stimulés.

3.3.2.2. Une phase de réparation qui dure de la 96ème à la 240ème heure.

Elle est caractérisée par :

- l'hyperplasie adénomateuse des pneumocytes de type II (qui n'est pas spécifique d'une atteinte virale).
- la prolifération des fibroblastes responsables de fibrose interalvéolaire (et intraalvéolaire dans le cas d'une atteinte alvéolaire sévère et d'une exsudation prolongée).
- l'infiltration, par des monocytes (essentiellement des macrophages) des lymphocytes et des plasmocytes, coïncide avec l'arrêt du processus de nécrose induit viralement, d'où l'hypothèse que l'afflux de ces cellules représente une réponse immunitaire locale contre le virus.

4 - Diagnostic

4.1. Diagnostic clinique

La différenciation clinique entre les caliciviroses et la rhinotrachéite (F.V.R.) est le plus souvent impossible POVEY et JOHNSON 1971 (26).

Cependant on peut retenir :

- que les caliciviroses sont moins sévères
- que la rhinotrachéite présente des signes oculaires sérieux avec des écoulements purulents
- que les ulcères buccaux sont plus spécifiques des caliciviroses
- que la mortalité est plus importante dans le cas de la rhinotrachéite.

4.2. Diagnostic de laboratoire :

il est surtout réalisé lors d'enquêtes épidémiologiques.

4.2.1. Isolement viral

Des écouvillonnages oculaire, nasal et pharyngien seront mis en culture sur cellules de rein de chat. Les meilleurs résultats sont obtenus avec les écouvillonnages pharyngiens.

4.2.2. Sérologie

Les anticorps séroneutralisants seront recherchés dans deux prélèvements de sérum effectués à 15 jours d'intervalle.

4.3. Diagnostic différentiel

cf tableau

Diagnostic différentiel des affections respiratoires supérieures du chat d'après POVEY 1977 (37)

	RHINOTRACHEITE	CALICIVIROSES	REOVIROSES	PNEUMONIE	MYCOPLASMES et AUTRES INFECTIONS
AGENT	Herpès félin I	Calicivirus félin nombreuses souches	Réovirus	Chlamydia psittaci (Miyagawanella felis; Bedsonia felis)	Mycoplasma spp, Staph. pyogenes Strep. pyogenes P. multocida B. bronchisepta et autres
INCLUSION	Inclusion intra-nucléaire dans les C. épithéliales respiratoires, la conjonctive, etc...	0	inclusion cytoplasmique paranucléaire	Corpuscules élémentaires intra-cytoplasmiques ds les c. épithéliales de la conjonctive	0
AUTRES HOTES	0	0	0	souris, hamster, cobaye, lapin	spécificité de quelques espèces
INCUBATION (infection naturelle)	2 - 10 j	1 - 9 j	4 - 19 j	6 - 15 j	habituellement secondaire
SIGNES CLINIQUES - Sévérité	Habituel^{t} la plus sévère	bénin à modéré les infections sucliniques sont fréquentes	bénin	bénin	les infections sub-cliniques sont fréquentes
- Signes oculaires	larmoiement conjonctivite chemosis occasionnel^{t} kératite	larmoiement parfois conjonctivite	larmoiement	conjonctivite qui peut être folliculaire	conjonctivite
- Signe nasal	Ecoulement séreux ou mucopurulent Eternuements	Ecoulement séreux éternuement occas^{l} ulcération de l'entrée des cavités nasales	écoulement nasal rare	écoulement nasal rare	aucun ou purulent

	RHINOTRACHEITE	CALICIVIROSES	REOVIROSES	PNEUMONIE	MYCOPLASMES et AUTRES INFECTIONS
SIGNES CLINIQUES (suite) - signes oraux	occasionnel^{t} des vésicules puis des ulcères de petite taille au niveau de l'épithélium buccal	Ulcération fréquente du bord ant^{r} et dorsal de la langue et du palais dur Gingivite	0	0	0
- autres signes	toux, avortements, ulcères de la peau, signes nerveux d'origine centrale	Erosion des pattes	0	0	0
Durée	2 - 4 semaines	7 à 10 jours	1 à 26 jours	souvent chronique ou récurrent	peut être chronique
Morbidité	élevée	élevée	50 %	variable	variable
Mortalité	élevée chez les chatons, les anim^{x} âgés ou immuno-déprimés	variable; pourrait être modérée chez les jeunes chatons	très faible	très faible	très faible
Etat de porteur	phase de latence avec périodes d'excrétion après un stress	excrétion continue jusqu'à la self clearance	probable	oui	oui
IMMUNITE	initial^{t} faible et transitoire peut être stimuler et devenir persistante	qq souches produisent une grande protection croisée quant à l'expression clinique mais permettent une multiplication virale limitée	inconnue	faible et transitoire	faible et transitoire

	RHINOTRACHEITE	CALICIVIROSES	REOVIROSES	PNEUMONIE	MYCOPLASMES et AUTRES INFECTIONS
Persistance des Anticorps d'origine maternelle	9 semaines	11 semaines	inconnue	inconnue	inconnue
DIAGNOSTIC	- Mise en évidence d'inclusion intra-nucléaire dans les frottis conjonctivaux précoces. - Isolement en culture - Immunofluorescence	- Isolement après mise en culture de tissu - immunofluorescence	- Isolement après mise en culture de tissu - Séroneutralisation - Immunofluorescence	- Frottis conjonctival coloré au Giemsa pour mise en évidence de corpuscules élémentaires - Fixation du Complément	- Culture
TRAITEMENT	- Symptomatique - Traitement d'appoint à base d'antibiotiques	- id - id	- symptomatique	- Tétracylcines localement et par voie générale	Antibiotiques
PROPHYLAXIE	Vaccin vivant modifié	Vaccin vivant modifié	0	Vaccin vivant modifié	0

5 - Traitement

Il n'existe pas actuellement de traitement antiviral efficace.

La sérothérapie, qui n'est pas un véritable traitement, est intéressante à étudier. Elle doit être employée à titre préventif ; c'est ce qui est réalisé par exemple lorsqu'on intervient sur des animaux en incubation dans une chatterie où une calicivirose a été diagnostiquée.

On peut alors employer un sérum du type SEROCAT (N.D.) de l'Institut MERIEUX. Il s'agit de sérum produit sur cheval hyperimmunisé. Le SEROCAT contient des anticorps contre la Panleucopénie , la Rhinotrachéite et la Calicivirose.

Ce sérum s'administre par voie générale et par voie locale. Cette dernière voie d'administration (instillation dans les yeux, les narines, la cavité buccale) semble la plus efficace. En effet, le sérum agirait à la fois de façon spécifique en neutralisant les virus, mais aussi de façon non spécifique en formant un film protecteur sur les muqueuses. Un parallèle peut être établi avec ce qui se passe in vitro : on emploie du sérum animal pour favoriser la croissance des cellules, mais il est impératif d'éliminer complètement ce sérum 24 heures avant l'inoculation des virus (le sérum est très défavorable à l'adsorption virale).

Il semble que le mode de protection non spécifique soit le plus important. En effet, POVEY 1979 a échoué dans sa tentative de réalisation d'un sérum universel contre les Caliciviroses (malgré un choix de souches présentant des réactions croisées très étendues) lorsqu'il administre par voie parentérale.

Le traitement proprement dit est purement symptomatique. Il est identique à celui des affections respiratoires banales et ne nous interesse pas directement. POVEY 1977 (28), GASKELL et WARDLEY 1977 (10) préconisent essentiellement de lutter contre les surinfections bactériennes, tout en maintenant l'état d'entretien, en rétablissant l'équilibre hydroélectrique, en favorisant la guérison et la reprise de l'appétit.

6 - Pathogénie et portage

Nous envisagerons un des aspects de la pathogénie qui pourrait servir d'introduction à l'Epidémiologie.

- La contamination se fait par inhalation de gouttelettes infectées ou par ingestion.

- Le virus se réplique initialement au niveau de la conjonctive, des muqueuses orale et nasale.

- Le virus atteint le poumon. Il se multiplie dans les pneumocytes I et peut être dans les macrophages alvéolaires.

- Une virémie transitoire aurait été détectée par CRANDELL et MADIN 1957 (7). Depuis personne ne l'a mise en évidence à nouveau. WARDLEY et POVEY 1976 (36) n'ont isolé de virus ni dans le sang, ni dans l'urine.

- Par contre, s'il est logique d'isoler les F.C.V. des écoulements oculaires, de la troisième paupière, des cornets nasaux, des ulcères buccaux, des amygdales, du pharynx, du poumon, de l'intestin grêle, du ganglion mésentérique, il l'est beaucoup moins de les isoler de la rate, du rein, de la vessie GILLESPIE et SCOTT 1973 (11). Cela pourrait-il correspondre à un dépot passif après un épisode virémique ?

- En 1977, WARDLEY et POVEY (37) montrent le rôle des amygdales.

Les F.C.V. sont isolés, le plus souvent et avec le titre le plus élevé, à partir des amygdales ce qui reflèterait leur rôle de filtre et ne représenterait qu'une accumulation passive.

Cependant, chez les porteurs sains, les FCV ne sont isolés que des amygdales qui constituent donc un site de multiplication active.

Ainsi les amygdales représentent le site préférentiel de multiplication des FCV aussi bien lors d'affections aigues que chroniques.

L'amylectomie ne constitue pas néanmoins un moyen de se débarasser des porteurs de F.C.V. (WARDLEY 1974)

- KAHN et GILLESPIE 1971 (14) retrouvent des FCV dans les écouvillons rectaux. Comme la multiplication du virus dans le tractus digestif n'a pas été démontré, le virus arriverait peut-être par l'intermédiaire de pneumocytes I et de macrophages alvéolaires rejetés des poumons et ensuite déglutis.

En résumé, il semble que les F.C.V. se multiplient principalement dans les cellules épithéliales et les macrophages alvéolaires du tractus respiratoire ainsi que dans les cellules épithéliales bordant les cryptes tonsillaires.

L'excrétion fécale et la réplication dans les amygdales expliquent la transmission de la maladie.

Le portage, lié à la multiplication de Calicivirus dans les cellules épithéliales des cryptes amygdaliennes suivie de leur excrétion malgré la présence d'anticorps chez l'animal porteur, permet au virus de se perpétuer.

D - EPIDEMIOLOGIE

1 - Source de virus

1.1. Le milieu extérieur

Il faut rappeler que les F.C.V. résistent 8 jours dans un milieu sec et 10 à 15 jours dans un milieu humide (leur résistance est intermédiaire entre les Herpèsvirus très fragiles et les Parvovirus très résistants).

Donc le milieu et les vecteurs peuvent être des sources de virus.

1.2. Les animaux malades

L'excrétion oculaire et nasale est de courte durée.

L'excrétion fécale se prolonge pendant 3 semaines.

L'excrétion pharyngée est la plus importante et peut durer très longtemps.

Remarque : Les F.C.V. pourraient être excrétés dans l'urine et la souche MANX a été associée de façon équivoque au syndrome urologique du chat.

1.3. Les porteurs

En raison de leur relative fragilité dans le milieu extérieur, les F.C.V. doivent assurer leur "survie" en persistant chez les chats.

On désigne par animaux porteurs de F.C.V., les chats qui excrètent des virus, pendant au minimum 30 jours, qui soient antigéniquement homogènes pendant toute l'excrétion.

En fait, 50 % des chats malades excrèteraient encore le virus 75 jours après la primo-infection (GASKELL et WARDLEY 1977 (10)).

Très souvent l'excrétion persiste un an (POVEY 1977 (28). WARDLEY 1976 (35) a étudié l'excrétion sur une période de 2 ans. GASKELL et WARDLEY 1977 (10) pensent que l'excrétion pourrait durer toute la vie du chat.

POVEY 1977 (28) a montré que lorsque l'excrétion virale cesse, l'arrêt est brutal et définitif.

Les porteurs de F.C.V. sont généralement indemnes de signes cliniques (on note parfois des gingivites chroniques).

Il a déjà été signalé que l'épithélium des amygdales constituait le site de persistance et de multiplication préférentiel des F.C.V. et cela malgré un titre élevé d'anticorps circulants concomitamment. POVEY et JOHNSON 1970 (25).

Les raisons de ce portage sont inconnues : la souche virale et l'immunocompétence du chat interviendraient.

Il existerait une corrélation négative entre la durée du portage et la virulence de la souche (donc la gravité de la maladie). WARDLEY et POVEY 1976 (36).

WARDLEY 1976 (35), POVEY 1977 (28), GASKELL et WARDLEY 1977 (10) ont montré que l'excrétion virale était continue : la quantité de virus excrété est à peu près constante pendant toute la durée du portage, indépendamment des influences extérieures.

Ainsi, un simple écouvillonnage oro-pharyngien répété quelques fois permet de découvrir dans une population féline, un portage de F.C.V.

En conclusion, le portage des Calicivirus félins est prolongé et continu. La transmission de la maladie se ferait principalement par contact.

Remarque : considération sur le portage des Herpès du chat d'après POVEY 1977 (28).

Dans le cas de la rhinotrachéite, le virus est véritablement caché ou latent dans des cellules non encore définies mais probablement dans les ganglions nerveux, à l'abri du système immunitaire.

De temps en temps, il y a réplication et libération de virus infectieux à partir des sites de latence. Ils sont ensuite excrétés dans les écoulements oculaire, nasal et oral.

Cette excrétion fait suite à l'administration de corticostéroïde ou à un stress. Environ 10 jours s'écoulent entre le stress et l'excrétion de virus.

L'excrétion dure de 1 à quelques jours et cesse pendant des semaines, des mois, avant de recommencer.

Ces réexcrétions peuvent avoir lieu sans l'apparition de signes cliniques, mais souvent on observe des manifestations discrètes comme un écoulement oculaire unilatéral et très occasionnellement une véritable affection clinique.

2 - Réceptivité

2.1. Espèce : les Félidés

2.2. Race : WARDLEY, GASKELL et POVEY 1974 (34)

Il semblerait que les Siamois soient plus sensibles

Dans la tranche d'âge de 0 à 1 ans, les isolements de virus sont moins fréquents chez les animaux à poils longs qui sont donc plus résistants.

Parmi les animaux plus âgés, les Burmese présentent le taux d'infection le plus bas.

2.3. Pas d'effet lié au sexe.

2.4. Age

Les animaux de tous âges peuvent être atteints.

Les isolements de F.C.V. sont significativement plus fréquents chez des chats de la naissance à 1 an.

KAHN et WALTON 1971 (15) signalent que les chatons sont sensibles à l'infection par des F.C.V. dès 4 à 8 semaines ; c'est à cet âge qu'ils situent la perte de l'immunité d'origine maternelle. Par ailleurs les anticorps colostraux ne procurent pas une protection absolue contre les F.C.V. Les chats de moins de 3 mois sont particulièrement exposés en raison de l'ubiquité du virus.

Chez les chats de plus d'un an, les isolements de virus sont beaucoup moins fréquents. En effet au delà de 1 an, la plupart des chats ont été en contact avec le virus et ont formé leurs propres anticorps. On peut donc considérer que les chats guéris ne s réinfectent pas facilement et que les animaux positifs parmi les chats âgés sont des porteurs excréteurs (WARDLEY, GASKELL, POVEY 1974 (34)).

2.4. Facteurs extrinsèques

Ils sont identiques à ceux des affections respiratoires comme la grippe humaine :

la saison : hiver

les déficiences organiques et immunitaires

2.5. Influence de la concentration d'animaux

Importance des isolements de	Calicivirus F.	Herpèsvirus
Chez des chats de particuliers	8 %	1 %
Chez des chats d'exposition	24,02 %	1,75 %
Dans des colonies	41,05 %	0,4 %

d'après WARDLEY, GASKELL, POVEY 1974 (34). La rhinotrachéite est rencontrée chez les chats isolés. Les caliciviroses sont plus fréquentes dans les rassemblements de chats.

3. Transmission

La contamination directe est la plus importante

La transmission indirecte existe très certainement ; elle est plus rare en raison de la fragilité du virus.

4. Voies de pénétration

L'infection se fait par contact des matières virulentes avec les muqueuses nasale, conjonctivale et buccale, mais probablement aussi par ingestion.

5. Remarques

Les bases de l'épidémiologie ont pu être établies grâce à des isolements de virus et à des enquêtes sérologiques.

5.1. Considérations générales sur les isolements de virus et conséquences pratiques.

5.1.1. Tout d'abord il faut rappeler que les chances d'isolement de F.C.V. sont beaucoup plus élevées si on utilise des écouvillonnages pharyngiens plutôt que des écouvillonnages oculaire ou nasal puisque c'est au niveau des amygdales que l'excrétion dure le plus longtemps dure le plus longtemps WALTON et GILLESPIE 1970 (33) ont confirmé ce résultat obtenu par BURKI 1966 ; WARDLEY 1976 (35) le constate à nouveau.

5.1.2. Chez des animaux atteints d'affections respiratoires, on isole dans 40 % des cas des Calicivirus et dans 40 % des cas des Herpèsvirus de type 1. STUDDERT 1978 (32).

5.1.3. L'incidence relative du virus de la F.V.R.(rhinotrachéite) et des F.C.V. est différente selon la population considéré

On isole davantage de F.C.V. dans une population en bonne santé.

On isole plus fréquemment des Herpèsvirus chez des chats atteints d'affections respiratoires. De même, on isole plus fréquemment des virus de la F.V.R. que des F.C.V. sur des cadavres

Ces considérations suggèrent à POVEY et JOHNSON 1971 (26 une pathogénicité plus grande de l'herpèsvirus de la F.V.R.

5.1.4. WARDLEY 1976 (35) a montré que si l'excrétion de F.C.V. est continue, la quantité de virus excrété varie considérablement entre les individus. Il distingue des excréteurs de haut nivea et des excréteurs de bas niveau.

En ce qui concerne les excréteurs de bas niveau, le titr du virus est parfois si faible que le système cellulaire manque de sensibilité pour le détecter. Ceci conduit à deux considérations

. L'une épidémiologique : pour détecter un excréteur de bas niveau, il faut pocéder à une série d'écouvillonnages oropharyngiens.

. L'autre épidémiologique et pathogénique, portant sur la vitesse d'extension de la maladie.

Un contact très court entre un animal sensible et un excréteur de haut niveau sera efficace quant au transfert d'un matériel viral suffisant alors qu'avec un excréteur de bas niveau il sera insuffisant.

5.2. Enquêtes sérologiques

La situation épidémiologique, en France, des affections respiratoires d'origine virale chez le chat, a été étudiée par LAURENT, OUDAR, CHAPPUIS en 1977 (18).

Ils ont obtenu 75 % de sérums positifs pour les Calicivirus et 35 % pour les Herpès ce qui est un peu inférieur aux chiffres donnés par STUDDERT 1978 (32) qui sont respectivement de 87 à 96 % pour les F.C.V. et 50 % pour les Herpès.

En résumé, les Caliciviroses ainsi que les Réoviroses sont très fréquentes.

La rhinotrachéite semble moins répandue mais il ne faut pas oublier que la cicatrice sérologique est toujours moins intense avec les virus de type Herpès (les Anticorps séroneutralisants persistent 2 à 3 mois).

La très forte proportion de sérums positifs envers les Calicivirus prélevés sur des chats de moins d'un an permet de penser que ces animaux sont très tôt en contact avec le virus.

Pour les Calicivirus et les Réovirus, l'augmentation du pourcentage de sérums positifs prélevés sur des chats de plus d'un an, n'est pas significative : il semble donc que ce virus affecte les jeunes animaux.

Dans le cas de la rhinotrachéite, la différence est significative, les animaux âgés de plus d'un an ont été plus en contact du virus.

6. Conclusion

Les Caliciviroses se présentent comme une enzootie avec des pics épizootiques au cours desquels la mortalité semble plus importante.

Le taux de mortalité dû aux Calicivirus seuls est en général très faible ; mais certaines souches, très pathogènes peuvent provoquer une mortalité atteignant 30 % chez des chatons de moins de 3 mois.

La mortalité peut atteindre 80 % si les Calicivirus sont associés à des Herpès ou des Parvovirus.

E - PROPHYLAXIE

1 - Prophylaxie sanitaire

Elle est difficile à cause de la relative résistance du virus, de la contagiosité et du portage.

Pour le chat de compagnie, elle est inapplicable.

Pour les chatteries, les mesures sanitaires sont indispensables mais pas efficaces avec certitude.

C'est pourquoi il est recommandé d'associer prophylaxie sanitaire et prophylaxie médicale.

1.1. Eviter l'introduction d'animaux infectés.

- Une quarantaine de 3 semaines pour tout nouvel arrivant permet à l'éventuelle affection en incubation de s'exprimer cliniquement.

- Un examen sérologique permet d'apprécier la protection immunitaire du nouvel arrivant et de procéder à une vaccination ou à un rappel si c'est nécessaire.

- Dans les élevages d'une certaine importance, il est indispensable de pratiquer des écouvillonnages pharyngés à plusieurs reprises pour rechercher des F.C.V. et détecter chez ce nouvel arrivant un porteur qui risque de contaminer tout l'élevage.

1.2. Isoler tout animal présentant des symptômes d'affection respiratoire ou d'inflammation des muqueuses.

1.3. Séparer les chatons de leur mère dès le sevrage. En effet, si la mère excrète du virus, elle contaminera les chatons dès qu'ils n'auront plus d'anticorps colostraux, ce qui se produit vers 9 semaines environ.

1.4. Employer des logements individuels avec des cloisons entre les cages. Eviter de transiter d'une cage à l'autre. Ne pas manipuler les chats plus que nécessaire.

1.5. Ne pas négliger la désinfection des locaux et l'hygiène du personnel. Employer des détergents concentrés

puisque les Calicivirus résistent aux détergents aux concentrations usuelles.

2 - Prophylaxie médicale

2.1. L'immunisation passive a été envisagée précédemment dans le traitement.

2.2. Immunisation active

2.2.1. Justification et buts d'une vaccination

L'importance économique et médicale justifient la vaccination surtout dans les effectifs. C'est pourquoi, de nombreux laboratoires américains et européens cherchent à mettre au point des vaccins efficaces.

Le but idéal dans un effectif estnon seulement de faire disparaître les troubles cliniques dus au virus, mais aussi de faire disparaître ce virus en faisant cesser le portage et l'excrétion. De plus, il faut tenter d'obtenir le plus rapidement possible une immunité durable, en réduisant au minimum les inconvénients post-vaccinaux CHAPPUIS 1979 (6).

2.2.2. Vaccinations associées

La rhinotrachéite et les caliciviroses représentent plus de 80 % des affections respiratoires du chat. Des tentatives préliminaires de vaccination contre la rhinotrachéite réalisées par POVEY et JOHNSON 1970 (25) ont échoué. Cet échec est attribué à des infections intercurrentes par des Calicivirus. Il devient donc évident que tout vaccin commercialisable doit comporter les deux valences.

Remarque : comme le réovirus n'entraîne que des affections respiratoires de très faible intensité clinique, il ne sera pas à l'origine d'une vaccination.

2.2.3. Possibilités de vaccination

La multiplicité des variants antigéniques de Calicivirus (à l'inverse de l'homogénéité antigénique et immunogénique de l'herpès félin) semblait rendre toute vaccination contre les

premiers, impossible. Cependant en raison de l'existence d'un seul sérotype et de dominants antigéniques, il est possible de choisir une souche qui neutralise la majorité des autres souches et qui présente une forte antigénicité.

2.2.4. Choix d'une réponse locale ou d'une réponse générale

Connaissant la pathogénie des caliciviroses et sachant que l'immunité "circulante" appréciée par des techniques sérologiques et l'immunité "locale" située au niveau de la muqueuse, sont très différentes, POVEY et JOHNSON 1970 (25) sont a priori favorable à une vaccination locale à l'aide d'un vaccin vivant atténué administré sous forme d'aérosol.

Les Ig A responsables de l'immunité "locale" ont une durée de vie beaucoup plus courte que les Ig G (qui succèdent aux Ig M); pour éviter le risque d'excrétion du virus vaccinal, pour empêcher l'extension d'une affection localisée, CHAPPUIS 1979 (6) est favorable, en première approximation, à une vaccination par voie générale.

2.2.5. Choix entre les vaccins vivants et les vaccins inactivés

2.2.5.1. Vaccins vivants

Ils sont administrables aussi bien

par voie parentérale : sous-cutanée et intramusculaire

que par voie locale : voie nasale qui constitue une des voies naturelles de l'infection.

Ils permettent l'installation plus rapide de l'immunité et ne sont pas neutralisés par les anticorps colostraux. Une seule administration peut suffire.

Par contre, ils peuvent occasionner une réaction post-vaccinale plus ou moins intense.

2.2.5.2. Vaccins inactivés

L'adjonction d'un adjuvant de l'immunité permet d'associer à une innocuité totale, une efficacité au moins équivalente aux vaccins vivants mais qui nécessite impérativement deux injections

à 15 jours-3 semaines d'intervalle lors de la première immunisation.

2.2.6. Quelques types de vaccins

Nom déposé	Nom du fabricant	virus vivant ou inactivé	dosage ml	voie d'administration
FELOMUNE-CVR	NORDEN	vivant	0,5	I.N.*
FVR - C	PITMAN-MOORE	vivant	1,0	I.M*
RESPOMUNE	DELLEN	vivant	1,0	S.C , I.M.*
DOHYVAC CH ou KATAVAC CH	PHILIPS-DUPHAR	vivant		I.N.*
RHINOLIN.C™	BIOCEUTIC			
FELIFLU	FROMM	vivant		
CORIZIFFA	MERIEUX	inactivé	1	S.C.*

* I.N. = intranasale, I.M.= Intramusculaire, S.C.= sous-cutanée

Remarques :

Les souches à très faible virulence, ainsi que les souches modifiées pour diminuer leur virulence (obtenues par exemple par passages successifs à basse température, 30-32°C) peuvent être administrées par voie intranasale ou dans les culs de sac conjonctivaux. Mais il y aura toujours excrétion.

Certains vaccins élaborés à partir de souches relativement virulentes qui sont donc administrable par voie intramusculaire, peuvent provoquer des accidents de vaccination, lorsque le vaccinateur produit malencontreusement un aérosol en reconstituant son vaccin. Le chat présentera alors tous les signes d'une affection clinique.

2.2.7. Etude d'un exemple de vaccin

Le CORIZIFFA (N.D.) d'IFFA-MERIEUX d'après CHAPPUIS 1979 (6).

2.2.7.1. Composition

Les souches vaccinales retenues sont :

pour l'Herpèsvirus R.T.F.Co

pour les Calicivirus $P.F_2$ (souche française)

Les virus sont cultivés sur cellules rénales de chat en lignée.

L'inactivation est réalisée par le glycidaldéhyde et la température

La réponse immunitaire est stimulée par l'adjonction d'un adjuvant huileux : le vaccin est constitué par une émulsion en phase huileuse d'une suspension virale inactivée.La phase huileuse est en proportion égale à la phase aqueuse.

2.2.7.2. Contrôles du vaccin (valence Calicivirus)

Le contrôle d'activité est excellent sur le plan sérologique et clinique.

Les innocuités locale et générale sont bonnes.

2.2.7.3. Vaccin plurivalent : LEUCORIFFA

L'adjonction du vaccin vivant lyophilisé de la panleucopénie dans le solvant constitué par le vaccin huileux montre qu'il est possible d'immuniser simultanément par voie parentérale (sous-cutanée) contre ces maladies.

2.2.7.4. Calendrier de vaccination

Le calendrier de vaccination préconisé est celui retenu pour la panleucopénie.

- 1ère injection entre la 8ème et la 12ème semaine d'âge.
- 2ème injection entre la 12ème et la 16ème semaine.
- Rappel annuel.

Remarques :

L'établissement d'un calendrier de vaccination est rendu difficile par la durée variable de l'immunité colostrale.

SCOTT 1977 (31) pense que les anticorps colostraux anti-F.C.V persistent jusqu'à 7 à 8 semaines. La majorité des chatons peut être vaccinée et s'immuniser avec succès à l'âge de 9 à 10 semaines. Quelques chatons ne répondront à la vaccination qu'à 12 semaines.

Quant à la durée de l'immunité : il a été montré par POVEY 1977 (29) que même lorsque les anticorps sont indécelables, il existe encore une protection jusqu'à un an.

2.2.7.5. Apparition de l'état immun POVEY 1977 (28)

Les anticorps homotypiques sont décelables 7 jours après la vaccination.

Les anticorps hétérotypiques apparaissent plus lentement entre 14 et 35 jours après la vaccination.

Evidemment une vaccination avec un vaccin vivant tel que FELOMUNE, assure une protection à 100 % lorsqu'on éprouve les animaux 48 heures après la vaccination. Les mécanismes invoqués sont du registre de l'interférence ou de la compétition des sites récepteurs.

2.2.8. Considérations sur les vaccins

2.2.8.1. La mise au point d'un vaccin inactivé est plus compliquée en raison de la nécessité de stimuler l'immunité par un adjuvant adapté.

2.2.8.2. POVEY et WILSON 1978 (30) ont comparé les vaccins inactivés avec les vaccins vivants.

Ils ont retenu en faveur des vaccins inactivés :

- l'innocuité : le virus vaccin n'a aucune virulence pour les animaux vaccinés ni pour les animaux "contacts".

Ils présentent moins de risques de contenir des agents étrangers vivants non détectés, en particulier d'autres virus.

Ils ne produisent aucun symptôme morbide.

- l'activité : la réponse sérologique est significative.

La protection presque complète lors d'une épreuve virulente.

En conclusion, un virus vaccinal tué et adjuvé, administré en deux fois est légèrement supérieur à une dose de vaccin vivant modifié, toutes catégories d'animaux confondues.

2.2.8.3. D'un point de vue éthique, le vaccin inactivé est plus satisfaisant.

Il évite l'excrétion et la contamination d'autres animaux.

Il annule le risque de réacquisition de la virulente par passage.

Il supprime la possibilité d'adaptation du virus à d'autres espèces à l'instar de ce qui a pu, peut-être, arriver en 1978 pour les Parvovirus.

2.2.8.4. Cependant, en raison de la pathogénie, on ne peut s'empêcher de chercher à développer une immunité locale.

F - CONCLUSION

Les Calicivirus sont caractérisés par une croissance rapide, un pouvoir cytolytique tellement intense qu'il empêche l'apparition d'inclusions intracellulaires. Ils constituent un sérotype unique.

Les caliciviroses sont des affections respiratoires du chat dont la gravité dépend de la souche de Calicivirus en cause. Si dans la majorité des cas les symptômes se limitent à des écoulements oculaire et nasal, à des ulcères buccaux, des souches particulièrement virulentes produisent des pneumonies interstitielles.

Le diagnostic étiologique relève du laboratoire où sont pratiqués l'isolement et l'identification du virus ainsi que la sérologie.

L'épidémiologie est dominée par un portage et une excrétion oropharyngienne prolongée et continue.

Enfin la vaccination est rendue possible par la parenté entre les souches et l'existence de souches dominantes.

DEUXIEME PARTIE

A - INTRODUCTION

Ce travail est une contribution à la mise au point d'une épreuve virulente sur chatons dans le cadre du contrôle d'activité directe des vaccins comportant la valence Calicivirus. Pour préciser ces notions, nous présenterons d'abord les normes américaines actuelles puis nous envisagerons les différentes étapes de cette épreuve :

l'étude de la croissance de la souche F.C.V. 255 sur différents systèmes cellulaires

la production en quantité du virus d'épreuve, récolté à son optimum de croissance

la réalisation expérimentale de la maladie

l'étude des différentes voies d'inoculation et la gravité clinique correspondante

l'excrétion virale

l'évolution des anticorps séroneutralisants

la cinétique des lésions microscopiques.

Normes du contrôle d'activité directe d'après les proposed rules 1979 (9) du Ministère de l'agriculture des U.S.A. (paragraphe 113 149 : vaccins à Calicivirus félins c).

Chaque lot de virus initial doit être testé pour son immunogénicité.

1 - 20 animaux vaccinés et 10 témoins sont utilisés. Il faut que les écouvillonnages pharyngiens soient négatifs quant à l'isolement de virus et que les sérums soient négatifs quant aux anticorps anticalicivirus à une dilution finale au demi.

2 - 21 jours après la dernière administration de vaccin, tous les chats sont éprouvés par voie intranasale à l'aide d'une

souche de Calicivirus félins virulents, titrant au minimum 10^5 D.E.C.P.$_{50}$ (Dose Effet Cytopathique 50), souche fournie ou approuvée par les services vétérinaires.

Quotidiennement et pendant 14 jours après l'épreuve, les chats sont observés et leur température rectale est prise. La présence ou l'absence de signes cliniques et en particulier de lésions de la muqueuse buccale sont notées chaque jour.

i) Si 8 des 10 animaux témoins ne présentent pas les signes cliniques de l'infection à Calicivirus félins, le test est ininterprétable et doit être répété.

ii) Si une différence significative dans les signes cliniques ne peut pas être démontrée entre les animaux vaccinés et les témoins, en utilisant un système de quotation approuvé par les services vétérinaires, la souche vaccinale n'est pas satisfaisante.

3 - La souche doit être retestée pour son immunogénicité au bout de 3 ans puis tous les 5 ans sauf si un changement de souche intervient.

On peut utiliser soit 10 animaux vaccinés et 6 témoins soit 5 animaux vaccinés et 3 témoins.

i) Si 5 sur 6 ou 3 sur 3 des témoins du nouveau test ne présentent pas les signes cliniques d'une infection à Calicivirus félins, le test est ininterprétable et doit être répété.

ii) Une différence significative dans les signes cliniques doit être démontrée entre les vaccinés et les témoins (cf 2 - ii)

Remarque : Le texte de 1978 était plus précis au 2-ii : si 70 % des animaux vaccinés ne sont pas protégés contre une température supérieure ou égale à 40°C et contre un ou plusieurs des signes cliniques observés chez les animaux témoins, la souche virale initiale n'est pas satisfaisante.

En résumé, les normes des Federal registers sont extrêmement vagues en raison de leur portée générale. La liberté laissée à chaque producteur est indispensable lorsqu'on connait l'extrême diversité de conception des vaccins.

B - PRODUCTION DU CALICIVIRUS D'EPREUVE

1 - Matériel et méthodes

1.1. Cultures cellulaires

- Cellules de lignées = CRFK (= Crandell Feline Kidney)

Une première cinétique est réalisée à partir de 20 falcons mis en culture avec 10 ml d'une suspension cellulaire comptant 100.000 CRFK par ml au 173e passage dans du MEM Lacta (Minimum Essential Medium lactalbumine), milieu enrichi par 8% de sérum de veau. Le tapis cellulaire est complet 2 jours après la mise en culture.

Une deuxième cinétique est réalisée à partir de 30 falcons de CRFK au 26e passage avec 30.000 cellules par ml dans du MEM lacta à 5% de sérum de veau.

- Cellules primaires de rein de chat

Après avoir saigné à blanc un chaton de 2 à 3 mois, on prélève les reins (toutes les opérations sont réalisées stérilement).

La capsule et la médullaire sont éliminées, on fractionne la corticale à l'aide d'un scalpel jusqu'à l'obtention d'une bouillie ; on fait ensuite agir la trypsine, préalablement chauffée à 37°C pour séparer les cellules les unes des autres. Après plusieurs traitements, la digestion enzymatique est arrêtée par l'adjonction de 10% de sérum de veau.

La suspension cellulaire est ensuite numérée : l'emploi de bleu trypan permet de ne comptabiliser que les cellules encore vivantes (les cellules mortes fixent le colorant).

Une suspension contenant 150 000 cellules primaires de rein de chat dans du milieu Parker lactalbumine enrichi de 5% de sérum de veau, est mise en culture dans des petits falcons.*

---

* Les falcons sont de petits récipients stériles en plastique, hermétiquement fermés.

Les Roux sont en verre et de taille plus importante.

On utilisera : 10 ml de cette suspension pour les petits falcons,
40 ml pour les grands falcons,
et 100 ml pour les Roux.

1.2. Virus étudié : F.C.V. 255

Le Feline CaliciVirus 255 a été isolé du tissu pulmonaire d'un chaton de 6 semaines qui présentait une pneumonie étendue et qui est mort peu après son introduction dans une colonie d'animaux. La caractérisation de cet agent est décrite par KAHN et GILLESPIE 1970 (13).

1.3. Etapes de la cinétique de croissance

. Les cellules sont cultivées à l'étuve à 37°C.

. Lorsque le tapis cellulaire est complet, le liquide surnageant est décanté au mieux, c'est-à-dire à l'aide d'une aiguille stérile reliée à une pompe à vide. Du milieu neuf, préalablement tiédi à 37°C, est introduit dans les falcons. On utilise à nouveau du MEM lacta pour les cellules de lignées et du Parker lacta pour les cellules primaires de rein de chat. Pendant les 24 heures qui précèdent l'inoculation du virus les cellules sont baignées par un milieu dépourvu de sérum de veau. Ce dernier, nécessaire à la croissance des cellules est défavorable à l'adsorption du virus.

. Juste avant l'inoculation du virus, les falcons sont décantés à l'aiguille à nouveau et rincés deux fois avec le milieu spécifique.

. Les aliquot, contenant le virus, sont poolés.

Le virus est alors inoculé à raison de 1 ml pour les petits falcons, de 3 ml pour les grands falcons et de 5 ml pour les Roux (on est alors obligé de rajouter 5 ml de milieu pour recouvrir le tapis cellulaire).

Des témoins sont inoculés avec du milieu.

. Le virus reste 1 heure en contact avec les cellules dans une étuve à 37°C. Les falcons sont agités doucement.

. Après le contact, les falcons sont décantés et rincés 2 fois pour éliminer au maximum le virus inoculé.

Dans le cas particulier des Roux, l'inoculum n'est pas éliminé. La surface des Roux n'étant pas plane, on améliore le contact en conservant le virus.

. Au cours du temps, on observe l'évolution de l'ECP et on prélève à intervalles réguliers des falcons.

Le liquide surnageant est centrifugé à 1000 tours par minute pendant 10 minutes.

5ml sont recueillis à part. Les 5 autres, après remise en suspension des cellules, sont réintroduits dans le falcon pour être congelés à -30°C.

Dans le cas des prélèvements tardifs et pour montrer que la décroissance du titre est plus rapide dans les cellules que dans le milieu, on opère comme suit : après une première centrifugation, on élimine tout le liquide surnageant ; les cellules sont remises en suspension dans du milieu frais et subissent une deuxième centrifugation, le surnageant est éliminé, les cellules sont reprises par 5 ml de milieu frais et réintroduites dans le falcon maintenu à +4°C pendant toute la durée de ce traitement.

1.4. Titrage du virus

Le titrage est réalisé selon une semi-microméthode en raison de la grande diffusibilité des calicivirus, le virus est dilué de 10 en 10 en tube dans du MEM lacta ; il est distribué au fur et à mesure sur des plaque microtest, à raison de 0,1 ml par cupule. La révélation du pouvoir infectieux se fait à l'aide de CRFK de différents passages (80 000 cellules par ml dans du MEM + 5% de sérum de veau). Les plaques sont incubées à 37°C en étuve à CO_2 en atmosphère humide. Les lectures se font les 3e et 4e jours à l'état frais.

Le titre du virus est calculé en utilisant la formule de Karber :

$$r = d + \frac{r}{N} \left(n + \frac{N}{2} \right)$$

d représente la dilution responsable de 100% d'ECP,
r la raison logarithmique des dilutions successives,
N le nombre de cupules par dilution,
n le nombre de cupules attaquées par des dilutions supérieures à celles donnant 100% d'ECP.

Le titre obtenu correspond à la dilution qui provoque un effet cytopathique dans 50% des cupules. Il est exprimé en logarithmes décimaux

2 - Résultats

2.1. Cinétique sur CRFK au 173ème passage

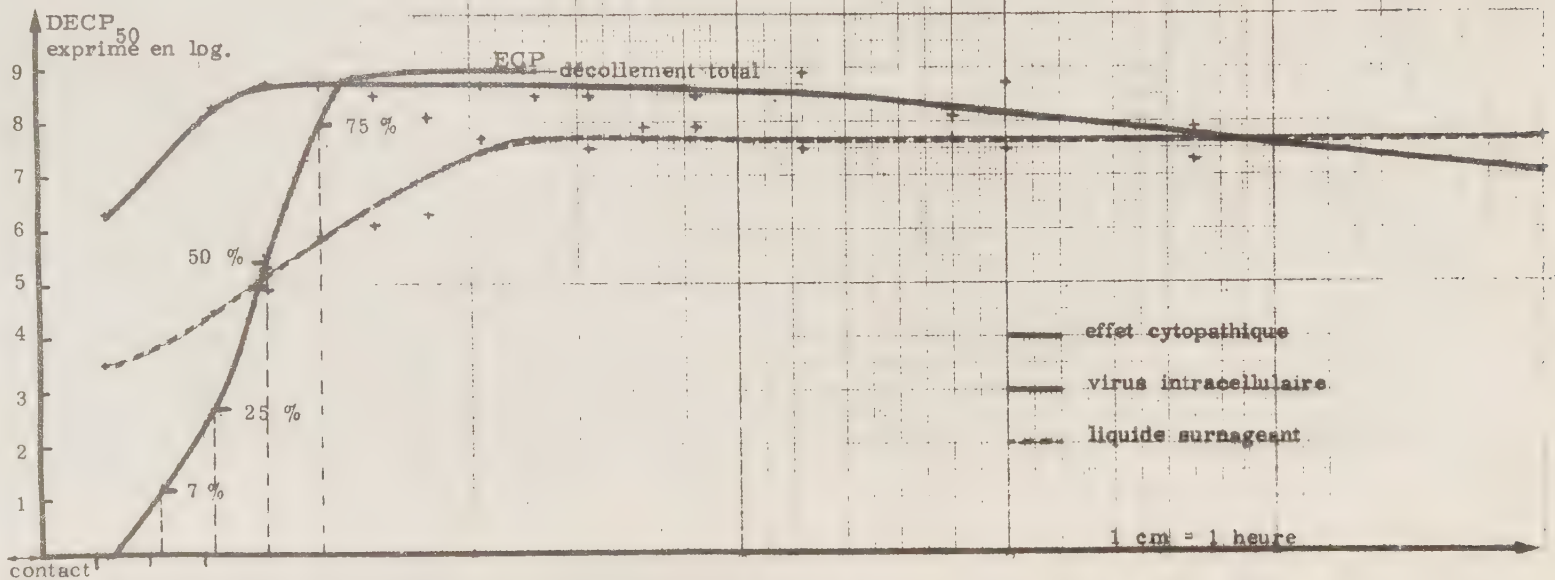
Le titrage est effectué à l'aide de CRFK aux 22e, 23e et 25e passages, le virus inoculé titrait 7,1 - 7,3, titre élevé puisqu'il correspond environ à 5 particules infectieuses par cellule.

	Temps après la fin du contact	Liquide surnageant	Contenu des cellules	Effet cytopathique
t 0	1 h	3,5	6,3	
				t 2 pas de différence significative
t 1	3 h	4,5	8,3	25% de cellules arrondies de grande taille
t 2	4 h	4,9	8,7	début d'attaque : 50% des cellules sont arrondies globuleuses
t 3	5 h	5,9	8,7	Il ne reste que 50% du tapis initial ECP 75% le cytoplasme des cellules fixées paraît plus gris.
t 4	6 h	6,1	8,5	90%
t 5	7 h	6,3	8,1	95%
t 6	8 h	7,7	8,7	99%
t 7	9 h	7,7	8,1	
t 8	10 h	7,5	8,3	
t 9	11 h	7,7	7,9	
t 10	12 h	8,5	7,9	
t 11	14 h	7,5	8,9	
t 12	17 h	7,7	7,9	
t 13	19 h	7,5	8,7	
t 14	22 h	7,9	7,3	
t 15	30 h	7,7	7,1	

cf courbe n°1

CINETIQUE DE PRODUCTION DE CALICIVIRUS FELIN FCV 285
SUR CRFK 173 e PASSAGE - TITRE DE L'INOCULUM : 7,2

Courbe n°1



La production du virus est abondante, elle atteint des titres de l'ordre de 8. Le plateau correspondant à la production maximale est atteint au bout de 3 heures dans les cellules et de 8 heures dans le liquide surnageant. Le cycle de replication est donc très rapide.

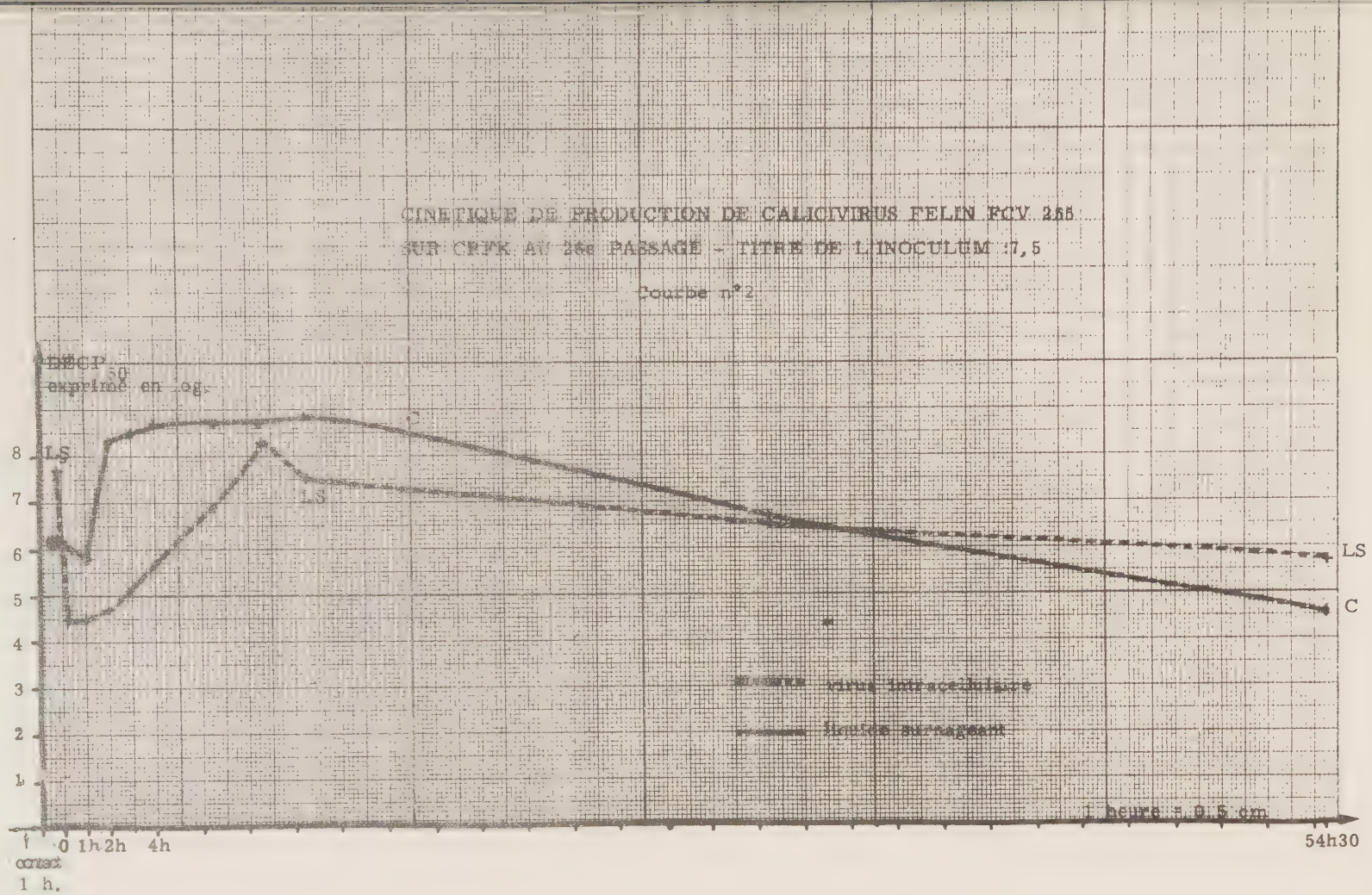
Remarque : pour préciser la courbe de production des Calicivirus, nous réaliserons des prélèvements toutes les heures pendant les dix premières heures et nous prolongerons l'étude au-delà de 30 heures pour suivre la décroissance du titre.

2.2. Cinétique sur CRFK au 26ème passage

Le titre de l'inoculum est de 7,5 titrage sur CRFK

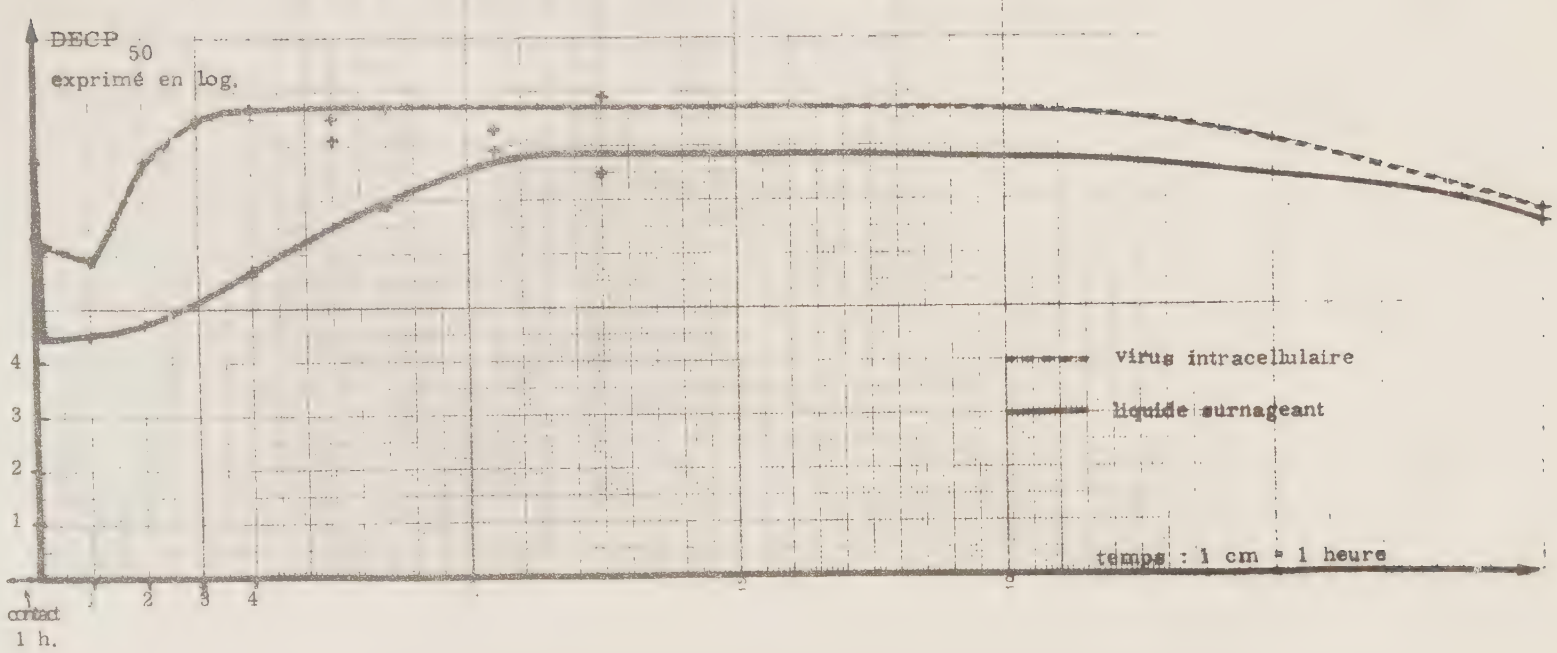
	Liquide surnageant	Cellules	Cellules décantées puis rincées	LS + C	ECP
Falcon contact	7,7*	6,3			
t 0 après rinçage	4,5	6,1			
1 h " "	4,5	5,9			
2 h " "	4,7	7,7			5 à 10%
3 h " "		8,5			50%
4 h " "	5,7	8,7	8,7		75%
5 h 30 " "	8,1		8,5		95%
6 h 30 " "	6,9	8,7	8,7		
8 h 30 " "	7,9	8,3	8,1	8,1	
10 h 30 " "	7,5	8,9			
30 h " "	6,5	7,3	6,7		
54 h " "	5,7	5,3	4,5		

cf Courbes n°2 et n°3


CINETIQUE DE PRODUCTION DE CALICIVIRUS FELIN FCV 255
SUR CRFK AV 26e PASSAGE - TITRE DE L'INOCULUM :7,5
Courbe n°2
DECP50
exprimé en log.
8
7
6
5
4
3
2
1
LS
LS
LS
C
1 heure = 0,5 cm
0 1h 2h 4h
54h30
contact
1 h.

CINETIQUE DE PRODUCTION DE CALICIVIRUS FELIN FCV 255
SUR CRFK AU 26e PASSAGE - TITRE DE L'INOCULUM : 7,5

Courbe n°3



Remarque : à t = 8 h 30, le liquide surnageant d'un autre falcon est éliminé, les cellules sont rincées, le falcon est maintenu à + 4°C. Le titre obtenu est alors de 8,7. Les résultats à 30 h et à 54 h sont obtenus en plaçant le falcon au réfrigérateur pendant les deux centrifugations.

Il s'agit en fait du ml de virus inoculé qui a été retiré après le contact.

Interprétation

. Les deux courbes obtenues avec des CRFK sont superposables

. La technique du rinçage des cellules n'entraîne une différence qu'à partir de 30 h. Cette différence est nette à 54 h. On peut donc considérer comme satisfaisante l'approximation faite pour la première cinétique.

. La chute du titre du virus apparaît au bout de 30 heures Après 54 heures, il ne reste que 1% de la population virale présente au début du plateau.

Commentaires

. Le maintien à + 4°C du falcon pendant les deux centrifugations améliore le titre.

. Le rinçage des cellules est nécessaire lorsque l'on prolonge la cinétique au-delà de 30 heures (le titre élevé du virus dans le LS masque sa chute à l'intérieur des cellules).

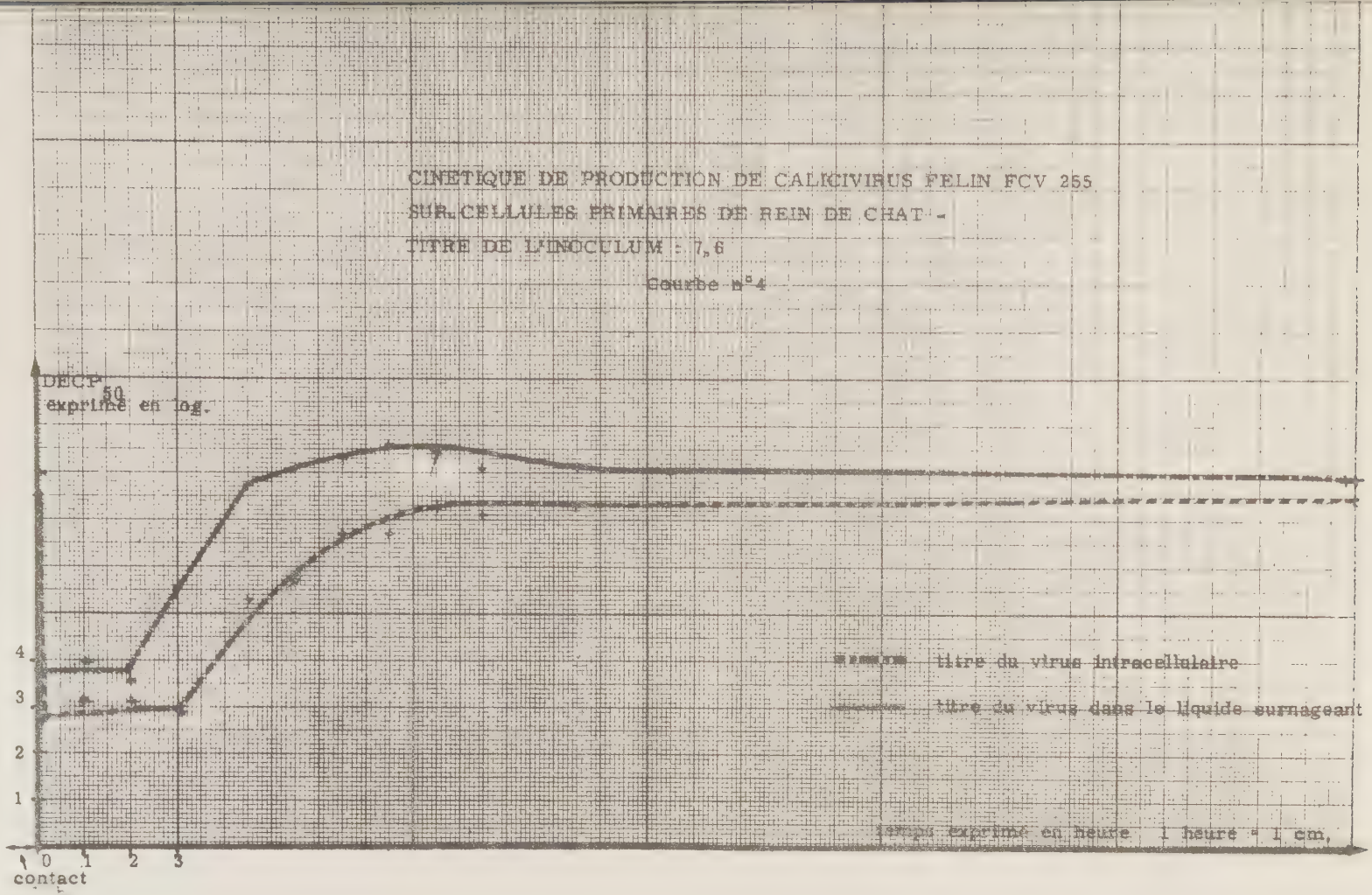
. Pour mieux suivre la décroissance du virus, il faudrait envisager des prélèvements toutes les 3 heures.

2.3. Cinétique sur cellules primaires de rein de chat

L'inoculum titrait 7,5 et 4,3 pour le virus dilué à 10^{-3}. Le titrage est effectué avec des CRFK aux 32ème et 184ème passages.

	Virus pur			Virus titrant 4,3	
	LS	C	ECP	LS	C
Falcon contact	7,5			4,3	
t 0	2,7	3,7		1,5	2,1
1 h	3,1	3,9	0		
2 h	3,1	3,5		1,5	1,7
3 h	2,9	5,5			
4 h 30	5,3	7,7	5%		
5 h 30	5,7	8,1	15%	4,1	5,5
6 h 30	6,7	8,3	25%		
7 h 30	6,7	8,5	40%		
8 h 30	7,3	8,5	50%		
9 h 30	7,1	8,1	60%		
11 h 30	7,3	8,1	75%	5,3	4,9
29 h 30	7,5	7,9	décolle-ment idéal	7,3	8,9

Cf Courbe n°4


CINETIQUE DE PRODUCTION DE CALICIVIRUS FELIN FCV 255
SUR CELLULES PRIMAIRES DE REIN DE CHAT -
TITRE DE L'INOCULUM : 7,6
Courbe n°4
DECP50
exprimé en log.
4
3
2
1
titre du virus intracellulaire
titre du virus dans le liquide surnageant
temps exprimé en heure 1 heure = 1 cm.
0
1
2
3
contact

Commentaires

. La production de virus sur des cellules primaires de rein de chat est plus lente que sur des CRFK.

	Inflexion de la courbe : pour le L.S.	pour les cellules
CRFK	7 - 8 h	3 h
Cellules primaires de rein de chat	8 h 30	5 h

. Les titres obtenus avec des cellules primaires de rein de chat sont inférieurs à ceux obtenus sur CRFK (on prend la valeur moyenne au niveau du plateau)

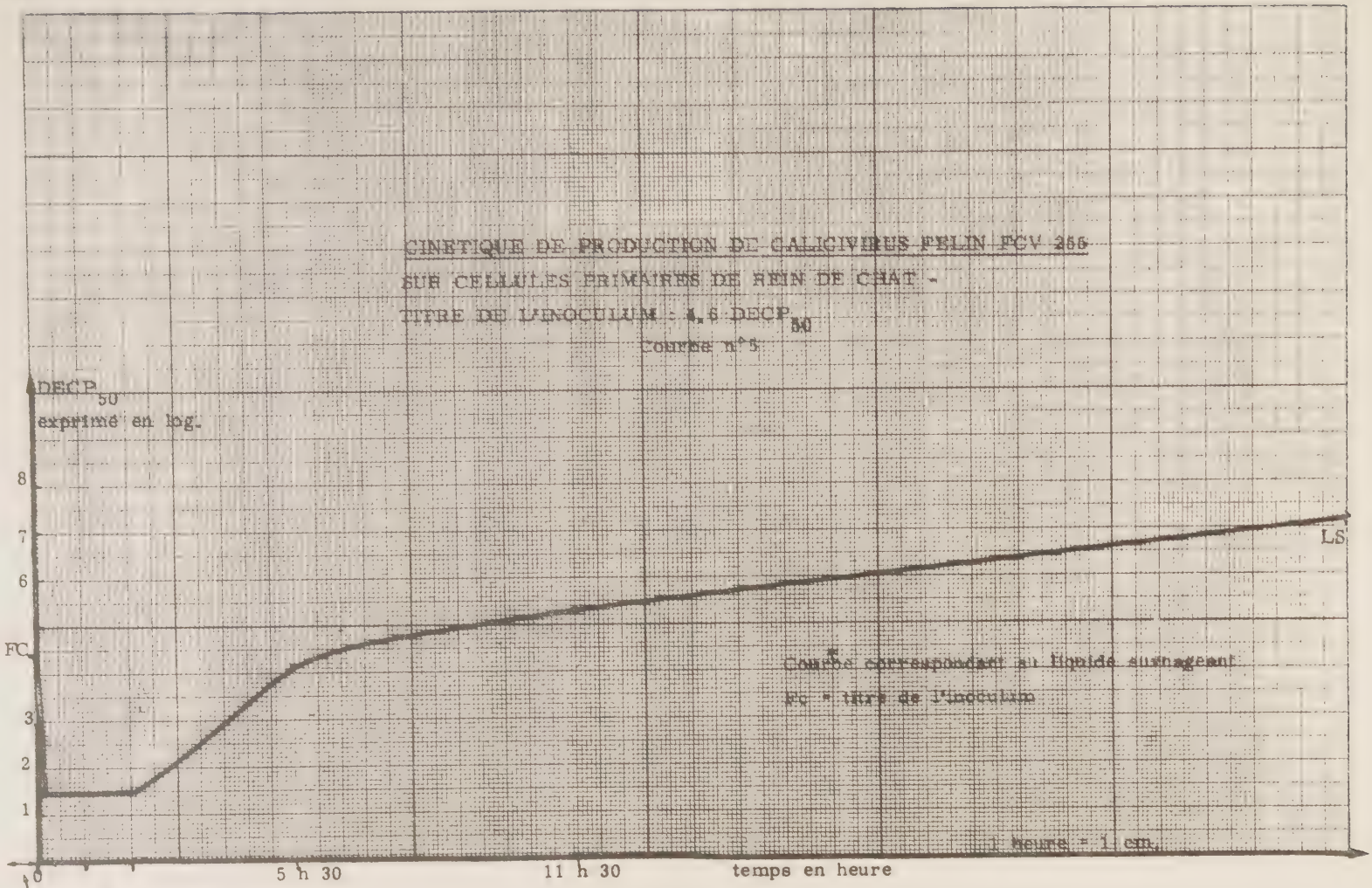
	L.S.	cellules
CRFK	7,7	8,7
Cellules primaires de rein de chat	7,3	8,3

Cependant la différence est faibleetdoit être modulée puisque le tapis de cellules primaires de rein de chat n'était pas aussi complet que celui des cellules de lignées.

. Les titres de virus obtenus après inoculation d'un virus titrant 4,3 sont faibles, la production virale est très ralentie (la courbe manque cependant de précision).

Cf courbe n°5

Pour atteindre un titre comparable à celui des cinétiques précédentes, plusieurs cycles viraux sont nécessaires. La production virale sera hétérogène quant à l'âge des virus et au nombre des passages.



Contact d'une heure.

3 - Production du virus d'épreuve

La production du virus d'épreuve a été réalisée sur cellules primaires de rein de chat en utilisant le F.C.V. 255 de premier passage après rafraîchissement.

Lorsqu'un virus est conservé congelé pendant plus d'une année, il est recommandé de procéder avant tout à un rafraîchissement. Malgré la congélation à -70°C, le virus se dégrade au cours du temps.

Un rafraîchissement est un simple passage sur culture cellulaire qui permet d'éliminer les particules qui ont perdu leur infectiosité et de relever le titre de la suspension virale.

Le virus rafraîchi est immédiatement ré-inoculé sans la scission d'une congélation.

. Inoculum initial	7,9
. Inoculum récolté 1 h après le contact	8,1
. Souche rafraîchie	8,3
. Virus produit sur grand falcon	8,1
. Virus produit sur Roux	8,3

Remarques :

La récolte du virus rafraîchi a lieu 13 heures après la fin du contact.

La récolte du virus en vue de l'épreuve a eu lieu 10 h après la fin du contact. (En effet, au bout de 7 heures, il ne restait que 30% du tapis initial).

4 - Conclusion

La croissance d'une population de Calicivirus est très rapide sur cellules de lignée ou sur cellules primaires lorsque l'inoculum a un titre élevé (environ 10 particules virales par cellule). La récolte peut avoir lieu 10 heures après la fin du contact.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par STUDDERT 1978 (32).

C - REALISATION EXPERIMENTALE D'UNE CALICIVIROSE SUR CHATONS

Introduction

En introduction à ce chapitre de pathologie expérimentale, il est intéressant de rappeler succinctement le protocole d'ORMEROD et JARRETT 1979 (23) et surtout de retenir leurs conclusions concernant les modalités d'administration.

Animaux d'expérience

Il s'agit de chats adultes des deux sexes, SPF

Ils sont mis en observation 3 jours avant l'infection ; juste avant l'infection, du sérum et des écouvillons oral, nasal et conjonctival sont prélevés pour examen virologique.

Inoculation

Intranasale

Par aérosol. Les chats sont enfermés dans des sacs de polyéthylène. Les particules nébulisées ont moins de 8 μ de diamètre. Le courant de l'aérosol est dirigé vers la tête pendant 2 minutes.

Traitement des écouvillons

L'écouvillon est retiré du tube.

On centrifuge le milieu à 2500 tours par minute pendant 15 minutes pour éliminer les gros débris.

Le surnageant est inoculé sur des cultures cellulaires.

Résultats

Identiques à ceux décrits dans la maladie naturelle.

Points importants

. Le mode d'administration affecte l'extension de la maladie. L'aérosol a produit une maladie plus sérieuse et plus étendue.

. La dose infectieuse

. La virulence de la souche

Interprétations

Les auteurs pensent que l'affection très limitée produite par la souche faiblement virulente, s'expliquerait par une multiplication virale insuffisante au niveau des amygdales pour s'étendre jusqu'à l'appareil respiratoire profond. Ce phénomène de limitation de la réplication in vivo ne serait-il pas du même ordre que la limitation de la taille des plages dans les cultures cellulaires in vitro ?

La possibilité d'isoler dès le 3ème jour au niveau du poumon les virus administrés par aérosol suggère que la réplication dans le poumon se produit très précocément. Le décalage histologique observé pour les animaux infectés par instillation intranasale permet de penser que le virus subit plusieurs cycles de réplication dans le tractus respiratoire supérieur et qu'ensuite il migre dans les poumons par le passage de l'air.

La transmission par aérosol d'animal à animal est d'une importance réduite dans la transmission naturelle. Les résultats expérimentaux obtenus par aérosolisation sont artificiels et exagèrent l'importance des pneumonies qui apparaissent cependant dans les infections naturelles.

En résumé, l'instillation nasale constitue une méthode de choix alors que l'aérosolisation produira une pathologie maximale.

La souche de KAHN et GILLESPIE n'a pas été testée en France, l'aérosolisation est donc justifiable puisqu'il nous importe de connaître et peut-être même d'exacerber sa virulence.

1 - Moyens et méthodes

1.1. Animaux

Il s'agit de chatons européens de 3 mois virus free, provenant de l'élevage de Lentilly. Les chatons sont placés en animalerie protégée;avant leur arrivée les boxes sont désinfectés à l'aide d'une bombe au formol. La circulation de l'air est ensuite rétablie : l'air des boxes subit une filtration stérilisante. Une surpression règne dans les boxes par rapport aux couloirs afin d'empêcher la pénétration de germes. Toute personne qui s'occupe de ces animaux virus free change deux fois de tenue, ce qui ne l' empêche pas en entrant dans le box de revêtir bottes, calot et blouse qui ne sortiront pas du box pendant toute la durée de l'expérimentation. A la porte de chaque box , on trouve de l'alcool pour se désinfecter les mains avant et après toute intervention. Enfin, les animaliers s'occupent de groupes d'espèces différentes, ayant reçu des virus différents de telle sorte qu'il n'y ait pas de réceptivité d'un quelconque groupe à l'autre vis-à-vis d'un quelconque des virus travaillés simultanément.

A leur arrivée, les chatons sont vaccinés contre la panleucopénie à l'aide de Féliniffa.N.D.

Les prises de sang sont effectuées à la veine jugulaire sur animaux anesthésiés avec 0,5 ml d'Imalgène 1000 N.D. (soit 50 mg de Kétamine), par voie intramusculaire.

1.2. Virus

Il s'agit du Feline Calicivirus 255 produit sur cellules primaires de rein de chat et titrant 8,3 DECP 50 par ml.

Avant l'administration, le virus est centrifugé 15 minutes à 3000 tours pour éliminer les cellules éventuellement présentes.

1.3. Voies d'inoculation

Pour mieux appréhender la maladie, nous réalisons des inoculations aussi bien locales que générales. Pour cela les chatons sont placés dans deux boxes.

1.3.1. Dans le premier, nous étudions l'inoculation par voie générale : nous plaçons trois chatons inoculés à l'aide de 1 ml de virus par voie intraveineuse (I.V.) et deux chatons mis

en "contact" avec les inoculés par voie intraveineuse (C.I.V.).

1.3.2. Dans le deuxième box, nous plaçons :

. 3 chatons inoculés par aérosolisation : I.N. (Intranasal)
. 3 chatons inoculés par voie buccale : I.B.
. 3 chatons inoculés par voie conjonctivale : I.O. (Intraoculaire)
. 2 chatons mis en "contact" avec les inoculés par voie locale : C.l.

1.3.3. Précisions concernant les modalités d'administration

. Administration par voie intranasale

Nous employons un nébuliseur pour cette inoculation. Afin d'éviter la diffusion immédiate aux congénères en raison de cette modalité particulière, l'inoculation n'est pas réalisée dans le boxe où vivront les animaux par la suite. La canule d'instillation ne pénètre pas plus profondément qu'à l'entrée des narines. Quinze implusions sont données pour chaque narine, ce qui correspond environ à 1 ml de solution virale. Les chatons reçoivent en plus 0,5 ml de virus par narine et sous forme de liquide administré avec une seringue pour compenser une éventuelle insuffisance de l'aérosolisation.

. Administration par voie oculaire.

Le virus est administré à l'aide d'une seringue en surface de l'œil et dans les culs de sacs conjonctivaux. Le massage de l'œil par mobilisation des paupières favorise une répartition homogène du virus. L'excédent d'inoculum qui s'écoule hors de l'œil est essuyé pour qu'il ne soit pas léché. On peut estimer à 0,5 ml la quantité administrée dans chaque œil .

. Administration par voie buccale

1ml de virus est administré à la seringue puis étalé sur la langue et le palais à l'aide d'un pinceau souple.

1.4. Tableau récapitulatif des interventions sur les chatons

	J 0	J 1	J 2	J 3	J 4	J 5	J 6
ère emaine	écouvillon. P.S. inocul.		écouvillon.		écouvillon. P.S. autopsie de 1 chat		
ème emaine	J 7	J 8 écouvillon. autopsie de 1 chat	J 9 P.S.	J 10	J 11 écouvillon. autopsie de 2 chats	J 12	J 13
me maine	J 14 P.S.	J 15 écouvillon.	J 16	J 17	J 18	J 19	J 20
	J 21 P.S. autopsie de 6 chats	J 22 P.S. autopsie de 6 chats					

- Aux jours indiqués, nous avons pratiqué trois écouvillonnages sur chaque chaton : l'un oculaire et buccal, l'autre nasopharyngien, le dernier rectal. Les écouvillons sont placés dans 2 ml de MEM lacta.

- En réalisant la prise de sang (P.S.) nous avons prélevé du sang veineux dans des unopettes (N.D.) pour numérer les leucocytes à l'aide d'une cellule de Mallassez.

- Quotidiennement et pendant les 14 premiers jours, la température rectale de chaque chaton est prise.

- Chaque jour, un examen clinique est réalisé.

Nous avons étudié l'état général à travers : l'abattement, l'appétit, les diarrhées éventuelles, l'hyperesthésie, la raideur de la démarche.

L'atteinte locale, au niveau de la porte d'entrée du virus :

. L'œil : conjonctivite, écoulement oculaire uni ou bilatéral, nature de cet écoulement.

. Nez : importance et nature de l'écoulement, éternuements, ulcérations.

. Cavité buccale : hypersalivation, ulcères du palais ou de la langue.

L'étude porte également sur l'appareil respiratoire profond en essayant de remarquer une dyspnée, une polypnée.

- En cours d'autopsie, des prélèvements seront réalisés stérilement auprès d'un bec bunsen.

Les prélèvements effectués sont les suivants :

. poumon, trachée, cornets nasaux

. 3ème paupière

. langue, amygdale, nœud lymphatique rétropharyngien, rate, rein, muscle.

Ils sont immédiatement congelés à - 20°C.

1.5. Titrage du virus présent dans les écouvillons

La méthode est la même que celle décrite dans le premier chapitre, paragraphe 1.4.

1.6. Titrage des sérums

Les sérums sont préalablement inactivés à 56°C pendant 30 minutes. Les sérums sont titrés en microméthode, les dilutions sont réalisées directement sur plaque de 1/3 en 1/3 (soit 0,48 en log), grâce à des loops de 0,025 ml dans 0,05 ml de MEM lacta. 0,05 ml de virus à 500 particules infectieuses par ml sont rajoutés dans chaque cupule : après agitation le contact dure 1 heure à 37°C . Les cellules révélatrices sont à nouveau des CRFK : 0,15 ml par cupule de suspension cellulaire à 80 000 cellules par ml.

Les lectures sont effectuées les 3ème et 5ème jours.

Les titres sont exprimés en doses protectrices 50% en log. Nous avons utilisé comme témoins :

. un sérum négatif
. un sérum positif
. un témoin cellules
. un témoin virus

Nous avons retitré le virus à chaque séance (nous avons utilisé le virus de notre production).

1.7. Préparation des prélèvements en vue de l'histologie

Des fragments de parenchyme pulmonaire et de parenchyme hépatique centrés sur les lésions macroscopiques, sont placés dans une solution de formol du commerce étendu au dixième en eau physiologique et saturée par du carbonate de calcium.

Après fixation, les échantillons ont été traités par les procédés habituels puis colorés à l'hémalun-éosine.

2 - Résultats

Nous envisagerons en premier lieu la clinique appréhendée directement sur les chatons à travers les symptômes et les lésions et en second lieu les résultats qui ont nécessité de recourir aux laboratoires de virologie et d'histologie.

2.1. Clinique

2.1.1. Symptômes et leur chronologie

2.1.1.1. Etat général

Abattement : il apparaît dès J 1. Il persiste pendant les 8 jours que dure l'hyperthermie;les quatre premiers jours, les chatons se regroupent en permanence dans une caisse de sciure. Ils présentent une réelle apathie. Il ne s'agit donc ni d'un défaut d'adaptation au nouveau milieu ni d'un comportement de fuite après l'examen clinique.

A partir de J 5 ils se mettent à jouer. Les chatons s'étirent fréquemment, ce qui suggère une raideur voire une douleur vertébrale (chaton 149 I.V.).

A partir de J 10, ils retrouvent un comportement normal.

Appétit : ils nous a été impossible de peser les chatons pour respecter leur isolement et ne pas risquer une contamination. L'évolution de l'appétit est appréhendée à travers la consommation d'aliments.

	Animaux inoculés localement + "contact" locaux 11 chatons	Animaux inoculés par voie intraveineuse + "contact" I.V. 5 chatons
J 0	0	0
J 1	5 boites de 400 g	1
J 2	2,5	1
J 3	2	1
J 4	1	1
J 5	1	2
J 6	1	2
J 7	1	2
J 8	1	2
J 9	1	1
J 10	2	2
J 11	2	2
J 12	3	3
J 13	3	3

Les animaux inoculés par voie générale présentent une chute brutale de l'appétit. Mais dès le 5ème jour l'appétit revient, l'infection n'a donc pas été grave.

Les animaux inoculés par voie locale perdent progressivement l'appétit (l'appétit est minimum de J 4 à J 9). Mais le 13ème jour ils ne l'ont pas complètement retrouvé.

Cette perte progressive résulte à la fois de l'évolution thermique, retardée dans ce lot d'animaux et de la gêne mécanique liée à l'apparition des vésicules puis des ulcères.

Remarque :

Ce moyen d'appréciation de l'appétit est très grossier ; il ne permet pas de connaître les variations individuelles.

D'après l'examen clinique, la taille des chatons ne paraît pas augmenter pendant les dix premiers jours.

Au contraire, après J 10 ils semblent grossir. Toutefois notre jugement est influencé par l'état du poil qui a perdu à J 10 son aspect piqué des jours précédents.

2.1.1.2. Affections localisées

- Les yeux

les chatons 124 I.O., 130 I.O., 128 I.N. présentent dès J 1 J 2 un très léger érythème, de la conjonctive, sans qu'on puisse parler d'une réelle conjonctivite.

Un écoulement oculaire séreux et très discret apparait chez ces mêmes chatons.

- Les cavités nasales

. Quelques chatons dont le 136 I.O. présentent des ulcérations du philtrum (espace situé entre le nez et la cavité buccale) et du bord libre des narines.

. Presque tous les chatons présentent un jetage, discret chez les animaux inoculés par voie intraveineuse, abondant chez les animaux inoculés par voie locale (exception faite de ceux inoculés par voie buccale). Il apparait dès J 2 et devient très important entre J 8 et J 10. D'abord séreux, il évolue rapidement en écoulement mucopurulent.

. Chez 3 ou 4 chatons (dont le 136 I.O.) le processus de cicatrisation des ulcères associé à ces écoulements oblitère totalement l'un ou les deux narines.

. Ces mêmes animaux éternuent avec une fréquence qui augmente de façon parallèle aux écoulements. Si certains présentent des crises, dans la majorité des cas les éternuements sont espacés. Pour toute la population des chatons inoculés par voie locale nous entendons un éternuement toutes les 5 minutes environ.

- La cavité buccale

Nous avons observé une hypersalivation discrète chez les chatons inoculés par voie locale. Elle précède l'apparition des vésicules.

Chez tous les chatons, apparaissent une, deux parfois trois vésicules ou aphtes (ces lésions sont identiques à celles de la fièvre aphteuse pour laquelle l'agent pathogène est aussi un Picornaviridae) : l'épithélium se soulève, la cavité néoformée se remplit de lymphe. (cf photo n° 1)

Ces vésicules sont localisées sur la langue (apex, bord, faces dorsale et inférieure), le palais dur et les lèvres. Visibles dès J 3, elles sont alors translucides et mesurent 3 à 4 mm de diamètre. Elles se développent jusqu'à atteindre 1 à 2 cm, leur contenu devient jaunâtre. Puis, elles s'excorient. On voit alors apparaître des ulcères. (cf photo n° 2)

Cette évolution de la vésicule à l'ulcère dure deux, trois ou quatre jours selon les chatons.

Les ulcères se recouvrent d'un magma nécrotique, grisâtre, épais (cf photo n° 3) que l'on enlève facilement ; les ulcères saignent alors abondamment. Cet enduit nécrotique s'élimine. Et, dès J 14, le fond des ulcères apparait rouge vif, ce qui signe un processus de cicatrisation. Au jour J 21 les ulcères ont totalement disparu. Il ne reste aucune cicatrice visible. Les chatons sont guéris cliniquement.

Photo n°1 Vésicule linguale chaton 119
cf page

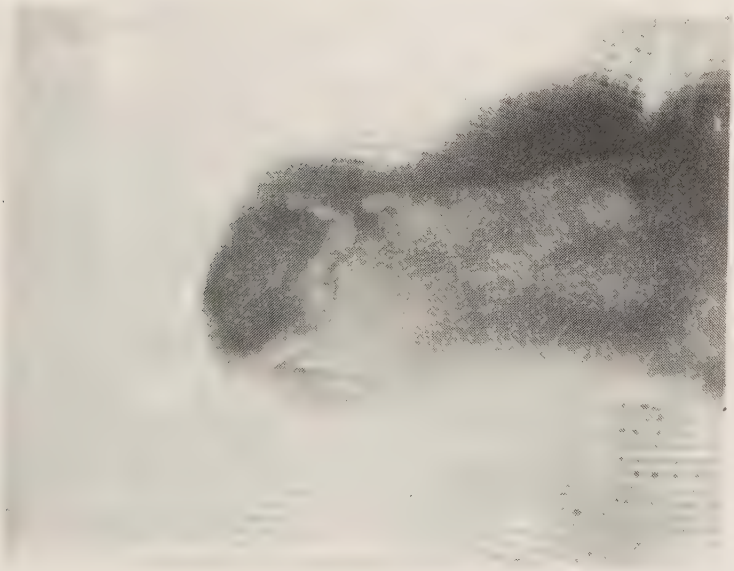


Photo n°2 Ulcère lingual chaton 152
cf page

Photo n°3 Magma nécrotique qui recouvre la lèvre supérieure Chaton 136 I.O.
cf page

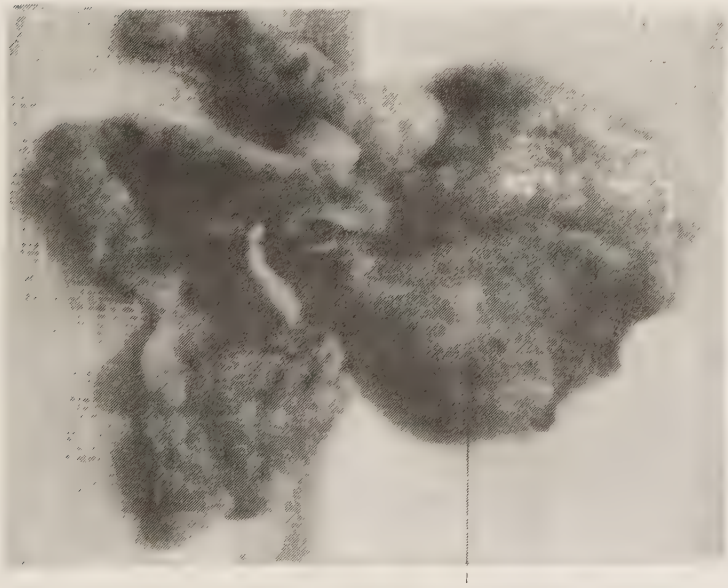


Photo n°4 Lésion pulmonaire Chaton 152
cf page

2.1.1.3. Symptômes respiratoires

Les symptômes respiratoires sont très difficiles à observer en raison de la tachychardie liée à l'âge, à l'hyperthermie et au stress de l'examen clinique. La polypnée qui en résulte n'a aucune signification. Les chatons ne toussent pas.

Remarque :

Les autopsies nous apportent la confirmation qu'un retentissement symptomatologique est impensable, étant donné la rareté des lésions pulmonaires.

2.1.1.4. Conclusion

Les manifestations cliniques obtenues sont importantes. Elles sont proches de celles décrites dans la partie bibliographique. Cependant, elles se limitent à un coryza sans atteinte pulmonaire décelable.

Qu'il nous soit permis de comparer cette calicivirose expérimentale à la rhinotrachéite pour établir la difficulté d'un diagnostic étiologique d'après la seule clinique :

- une calicivirose grave affecte également l'appareil respiratoire profond. La rhinotrachéite affecte uniquement l'appareil respiratoire supérieur.
- dans le cas présent, seule l'absence de conjonctivite est en faveur d'une calicivirose (la rhinotrachéite s'accompagne toujours d'une conjonctivite marquée).
- cette comparaison se justifie dans la mesure où un mélange des deux virus a été parfois employé dans ce genre d'épreuve. Par la suite nous confirmerons l'étiologie de notre affection.

2.1.2. Résultats quantifiables

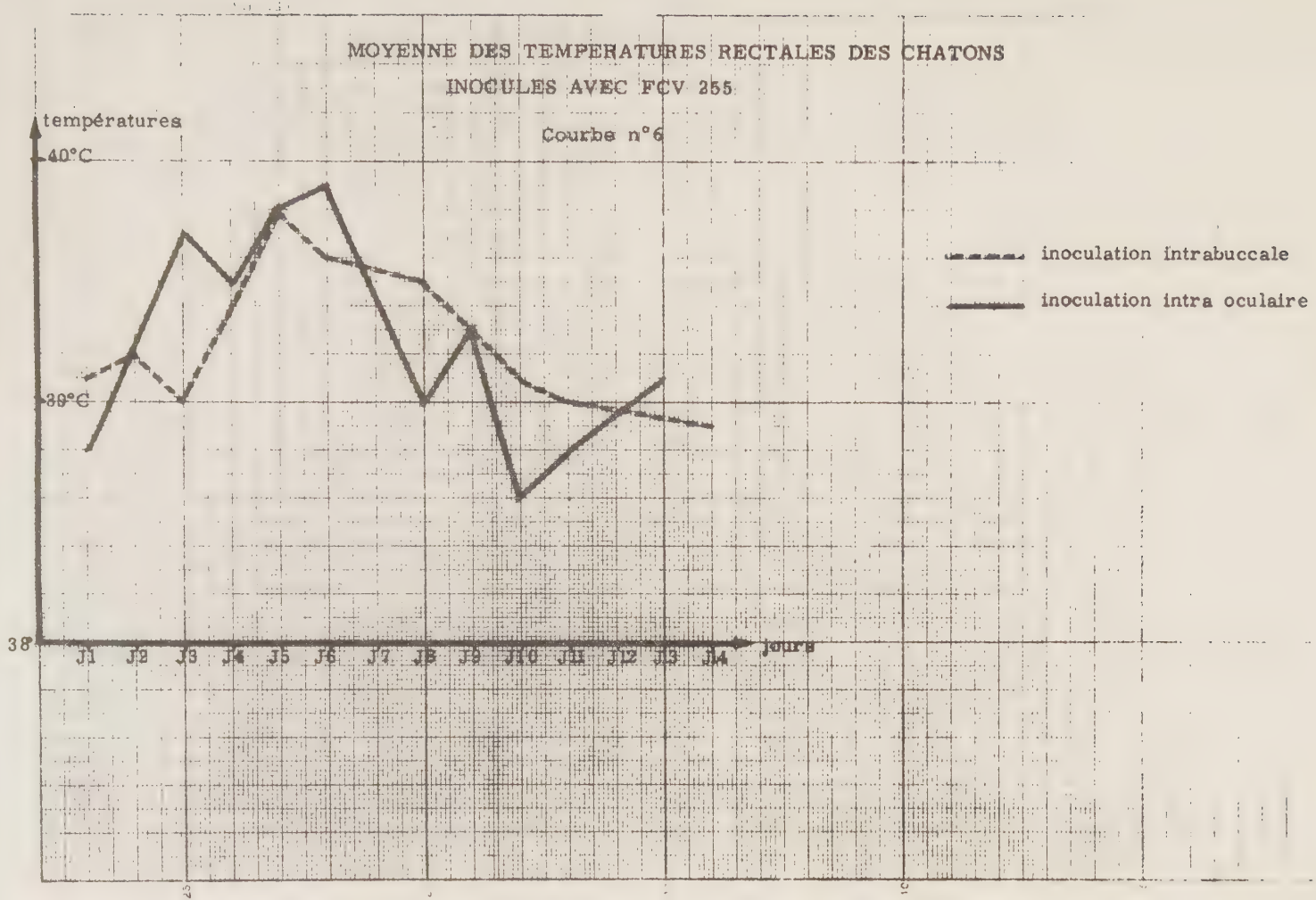
2.1.2.1. Evolution thermique

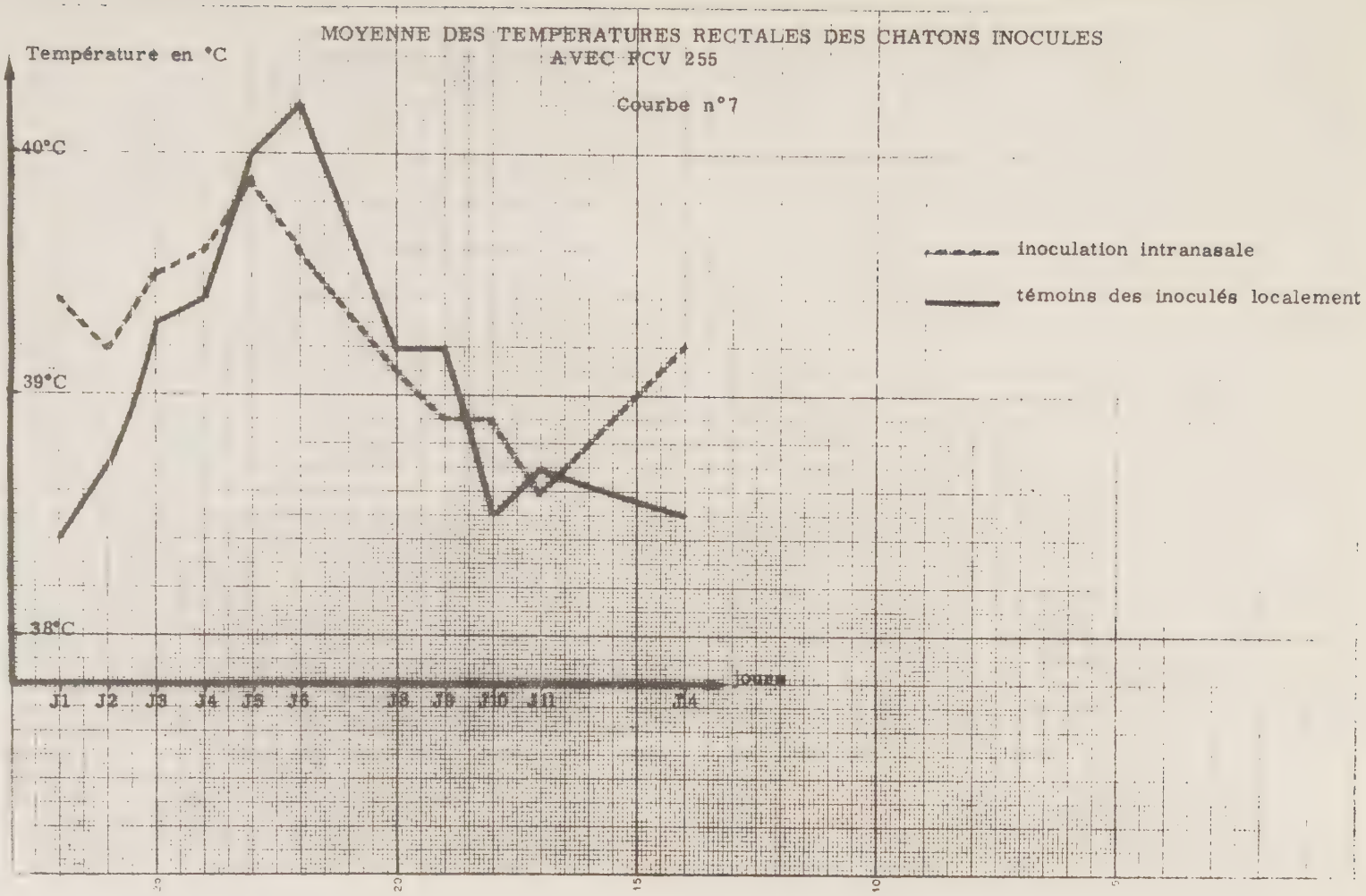
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J8	J9	J10	J11	J14
119 IB	39,1	39,2	39,3	39,9	40	40,1	39,3	39,5	39,4	39,2	39,1
120 IB	38,8	38,9	39,2	39	39,3	39,4	39,4	39,5	38,8	39	38,8
121 C.1.	38,6	38,5	39	39,3	39,9	40,4	39,5	38,9	38	38,5	38,2
122 IO	39	38,8	39,9	38,9	39,8	40,1	39	39,1	38,6	38,5	38,9
124 IO	38,5	39	39,7	39,8	39,8	39,6	39,1	39	38,7	39	39,9
125 C.1.	38,2	38,9	39,7	39,3	39,6	40	38,8	39,6	39,1	38,9	38,7
126 IB	39,5	39,2	38,6	39,5	40,1	39,3	39,9	38,9	39,1	39	39,1
128 IN	39,4	38,9	39,2	39,7	39,6	39,3	39,1	38,9	38,9	38,6	39,2
129 CIV	38,7	38,8	39	39,2	39,1	39,9	39,6	39,2	38,9	38,9	38,9
130 CIV	38,7	38,6	39,3	38,2	39,2	39,8	39,4	39,3	39,2	39	38,1
136 IO	38,9	39,7	39,5	39,9	39,8	39,9	38,8	39,7	38,5		
137 IN	39,6	39,5	40	39,7							
148 IV	38,8	39,5	39,8	38,8	39	38,7	38,7	38,2	38,8	39,1	38,2
149 IV	39,2	38,7	39,1	38,5	38,9	38,3	38,7	38,7	39		
152 IN	39,2	39,2	39°2	40,2	40,2	40					
160 IV	38,7	39,3	39	38	38,7	38,7	38,8	38,5	38,6	38,9	38,7

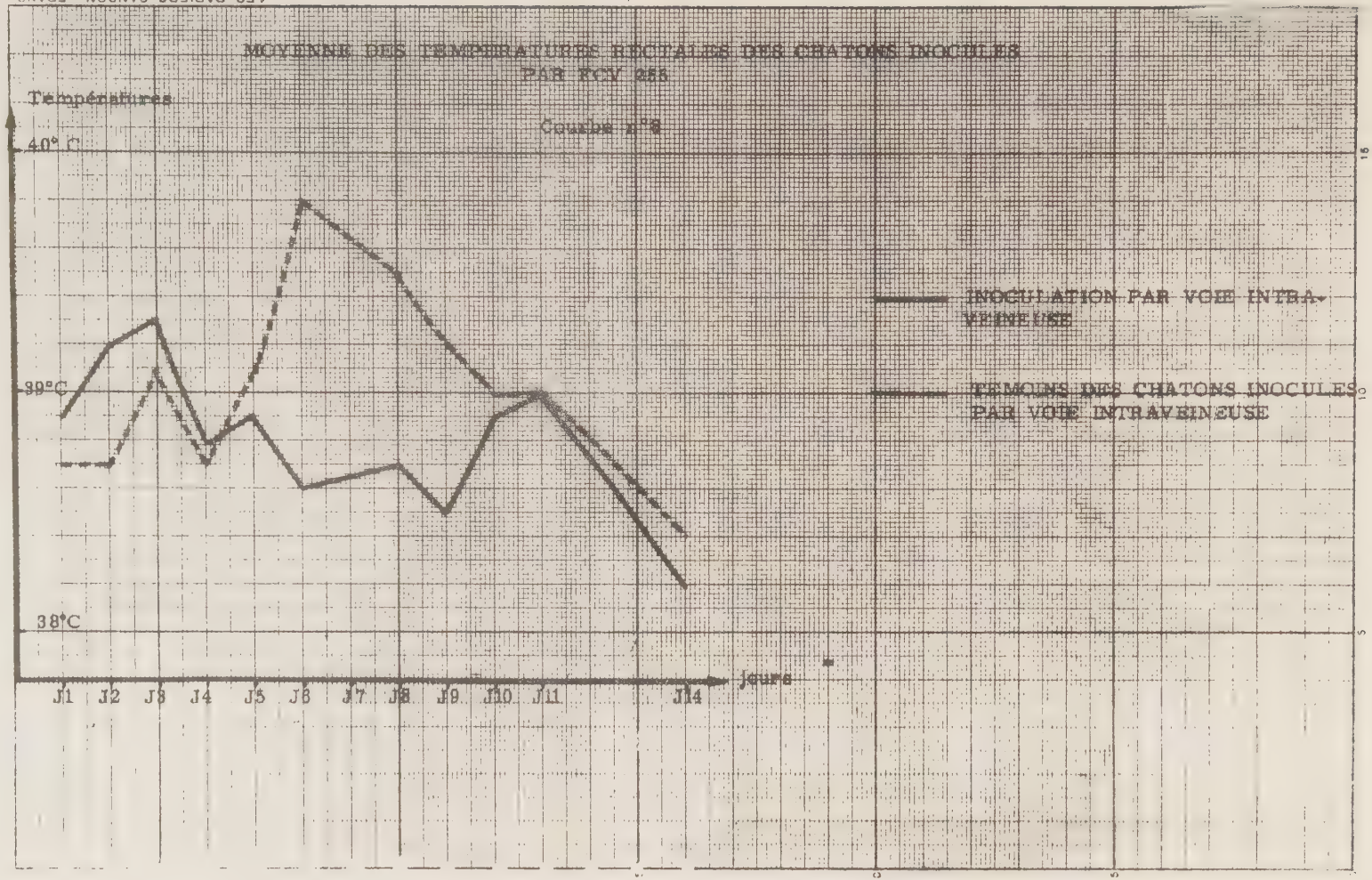
cf courbes n° 6, 7 et 8

D'après les valeurs obtenues, nous considèrons comme anormales des températures supérieures à 39,2°C.

Il est intéressant de tenir compte des pics thermiques et de la durée de l'hyperthermie.


MOYENNE DES TEMPERATURES RECTALES DES CHATONS
INOCULES AVEC FCV 255
Courbe n°6
températures
40°C
39°C
38°
J1 J2 J3 J4 J5 J6 J7 J8 J9 J10 J11 J12 J13 J14
jours
inoculation intrabuccale
inoculation intra oculaire


MOYENNE DES TEMPERATURES RECTALES DES CHATONS INOCULES
AVEC FCV 255
Courbe n°7
Température en °C
40°C
39°C
38°C
inoculation intranasale
témoins des inoculés localement
J1
J2
J3
J4
J5
J6
J8
J9
J10
J11
J14
jours



LES PAPIERS CANSON - FRANCE

	1er pic	2ème pic	Durée de l'hyperthermie 39°C
Chats inoculés par voie intranasale	J1 au J3	J5	8 jours
chats inoculés par voie intraoculaire	J3	J5 J6	7 jours
chats inoculés par voie intra buccale	J2 J3	J5 J6	10 jours
Chats témoins "contact" des chats inoculés localement	J3	J6	8 - 9 jours
Chats inoculés par voie intraveineuse	J0 J1	J2 J3	3 jours
Chats"contact"des chats inoculés par voie intraveineuse	J3	J6	5 à 6 jours

L'évolution thermique est biphasique. Le premier pic apparait en moyenne le 3ème jour après l'inoculation.

Les deux pics semblent séparés de deux jours. Les températures maximales atteignent et dépassent 40°C ; les températures normales se situent entre 38° et 39°C.

Remarque :

WARDLEY et POVEY 1976 (36) constatent chez des chats infectés par la souche de Calicivirus M 8 (souche de faible virulence) une réponse thermique biphasique avec un premier pic 3 à 4 jours après l'inoculation et un deuxième pic 6 à 7 jours après l'inoculation.

Nos résultats ne sont pas en contradiction avec les leurs.

L'emploi d'une sonde rectale devrait permettre des prises de température biquotidiennes, ce qui accroîtrait la fiabilité des résultats.

2.1.2.2. Numération blanche

Résultats

	J 4	J 9	J 14
119 IB	11.200	17.200	14.800
120 IB	14.000	14.000	13.200
121 C.1.	5.600	7.600	13.200
122 IO	14.400	17.200	9.200
124 IO	14.900	20.800	11.600
125 C.1.	15.200	15.200	16.400
126 IB	15.200	19.200	12.800
128 IN	15.200	18.800	14.000
129 CIV	22.800	15.600	10.800
130 CIV	15.200	12.800	12.000
136 IO	12.400		
137 IN			
148 IV	10.400	12.000	12.400
149 IV	7.600	16.000	
152 IN	16.000		
160 IV	9.600	14.000	13.200

Interprétation

Chez les chats inoculés par voie locale (119, 120, 122, 124, 126, 128, 136, 137, 152), le nombre des leucocytes augmente vers J 9 puis diminue vers J 14.

Les animaux mis en"contact" avec les chats inoculés par voie locale (121 et 125) présentent un décalage dans la modification de leur formule blanche. Elle augmente dès J 9 et augmente encore à J 14.

Chez les animaux inoculés par voie intraveineuse (148, 149 et 160), le nombre des globules blancs augmente de J 4 à J 9, puis se maintient au même niveau à J 14. L'augmentation est moins importante que pour les chats inoculés par voie locale, puisque par voie intraveineuse les Calicivirus produisent moins de troubles

- en moyenne 14 000 à J 9 pour les I.V.
- en moyenne 18 000 à J 9 pour les voies locales.

Les valeurs trouvées le 4ème jour sont inférieures à celles de tous les autres chats. Le virus semble provoquer dans un premier temps une chute de globules blancs. Ce résultat n'a pas été mis en évidence chez les autres chats en raison de l'intervalle trop long entre J 4 et J 9.

Les animaux mis en "contact" avec les chats I.V. (129 et 130) présentent une diminution des globules blancs de J 4 à J 14.

Conclusion

Les numérations sont insuffisantes pour être bien exploitées, il faudrait envisager de les pratiquer quotidiennement.

Cependant, on peut soupçonner l'existence d'une chute, suivie d'une augmentation nette, mais modérée des globules blancs. Le retour à la normale est très rapide, il coïncide avec la guérison clinique des chatons vers J 14.

2.1.3. Lésions

2.1.3.1. Lésions de la sphère oro-nasale

. A partir de J 3 apparaissent des vésicules ou aphtes. Ces lésions sont identiques à celles rencontrées lors de Fièvre Aphteuse où elles portent le nom de nécrose de liquéfaction ou colliquative. Dans le cas de la Calicivirose féline le processus, très certainement voisin, résulterait également d'une dégénérescence vacuolaire. Le contenu de l'aphte, initialement clair devient jaunâtre probablement par afflux de polynucléaires neutrophiles.

. Les jours suivants, la nécrose se poursuit et aboutit à la rupture du plafond de l'aphte. Des ulcères apparaissent à partir de J 5 - J 6 : il s'agit d'une perte de substance profonde que l'on peut apprécier sur la photo n°2. Un magma recouvre ces ulcères, il comporte des débris cellulaires et un exsudat riche en polynucléaires.

. Progressivement, le magma nécrotique s'élimine. A partir de J 14, le fond des ulcères apparait rouge vif. Cette coloration est liée aux bourgeons charnus dont on sait qu'ils constituent le tissu de granulation qui va combler la brèche.

. A J 21 il n'est plus possible de voir macroscopiquement la moindre cicatrice ; les muqueuses ayant retrouvé leur intégrité.

Remarque :

Ces lésions siègent sur la langue, le palais dur, les lèvres, le philtrum, la base des narines.

La recherche de vésicules ou d'érosions sur le palais mou, les amygdales et la muqueuse pituitaire, s'est révélée négative.

2.1.3.2. Lésions pulmonaires

La date des autopsies a été choisie selon un protocole qui permette de distinguer les différentes phases de l'évolution.

- Chaton 137 I.N. autopsié au jour J 4. L'absence de lésions macroscopiques n'exclut pas des lésions microscopiques.
- Chaton 152 I.N. autopsié au jour J 8. Le parenchyme pulmonaire montre une lésion circonscrite, sphérique, de la taille d'un petit pois (cf photo n°4) dont la consistance est augmentée.

A la coupe, s'écoule une sérosité de couleur jaunâtre qui pourrait correspondre à du pus.

De nombreuses petites lésions éparses, rouges, peu succulentes, traduisent une atelectasie.

Enfin de l'emphysème apparaît à la périphérie du poumon.

Ces observations ne nous autorisent nullement à parler de foyers de pneumonie interstitielle, caractéristiques des maladies à virus pneumotropes. Seule l'histologie nous permettra de préciser la nature de ces lésions.

- Chez le chaton 136 I.O. autopsié au jour J 10. Nous retrouvons de petits foyers d'atelectasie et un emphysème intense à la périphérie du poumon.

- Le chaton 149 I.V. autopsié au jour J 10 présente de l'emphysème et des zones diffuses de coloration rouge qui laissent écouler du sang à la section. (Il s'agit de l'aspiration du sang dans les voies respiratoires pendant la saignée).

- Le chaton 121, "contact" des animaux inoculés par voie locale autopsiés au jour J 22, montre une lésion arrondie rouge, sèche à la section, ainsi qu'une bande grisâtre de consistance plus ferme. L'ensemble fait penser à un processus de réparation.

- Tous les autres chatons sont autopsiés soit au jour J 21 soit au jour J 22.

. Le chaton 128 I.N. ne présente aucune lésion pulmonaire. L'aérosolisation a pour but d'administrer le virus directement dans le poumon, plus précisément au niveau des pneumocytes où il se multiplie immédiatement. Il est permis d'avancer l'hypothèse d'une réparation complète, à l'échelle macroscopique, de lésions, 22 jours après l'inoculation.

. Les chatons : 148 I.V., 160 I.V., 129 C.I.V.
124 I.O., 122 I.O., 119 I.B.
montrent de l'emphysème, de l'atelectasie et parfois des zones de cicatrisation. Il faut insister sur l'extrême discrétion de ces lésions.

. Sur les autres chatons
130 C.I.V., 120 I.B., 125 C.local : aucune lésion pulmonaire.

Conclusion

Quelle que soit la voie d'inoculation, nous constatons des lésions des poumons.

Ces lésions sont toujours très limitées. Chez les animaux autopsiés en cours d'expérimentation, 137 I.N., 152 I.N., 136 I.O., 149 I.V., elles sont plus importantes ; mais il faut savoir que ces chats ont été sacrifiés en raison de la gravité de leur état.

Difficiles à interpréter, ces lésions nécessitent le recours à l'histologie.

Le processus de réparation est rapide:3 semaines après l'inoculation, les lésions sont particulièrement discrètes.

2.1.3.3. Autres organes

. Les Calicivirus félins ont été incriminés dans l'urolithiase du chat. A l'heure actuelle, le virus syncitial félin serait l'agent essentiel, les calicivirus joueraient un rôle secondaire. Nous avons recherché vainement des lésions rénales.

. Le foie des chatons 126 I.B., 136 I.O., 124 I.O., 122 I.O.
137 I.N., 152 I.N., 125 C.local
149 I.V., 130 C.IV, 129 C.IV
présente une coloration hétérogène, parfois des trajets hémorragiques ; et chez le chaton 129 C.IV, des traces blanchâtres irrégulières, étoilées, situées aussi bien en surface que dans l'épaisseur du parenchyme hépatique.

L'ensemble pourrait faire penser à de l'ascaridose ?

. LOVE 1975 (19) a constaté une hypertrophie de la rate. Si la rate de nos chatons demeurent de taille normale, les corpuscules de Malpighi sont très visibles à la section.

. Le thymus de tous ces chatons conserve une taille importante contrairement à celui de chatons atteints de panleucopénie chez lesquels il est très atrophié.

2.1.3.4. Conclusion

Contrairement à ce que nous avions escompté, les lésions pulmonaires sont discrètes.

L'atteinte virale est localisée essentiellement dans la cavité buccale.

Les atteintes du foie restent inexpliquées dans la mesure où nous ignorons si les virus inoculés sont responsables ou s'il s'agit de facteurs contingents.

2.1.4. Comparaison de la gravité de l'évolution clinique en fonction de la voie d'inoculation.

		Gravité clinique	Importance de la réponse thermique	
			Durée	Intensité pic
119 120 126	voie intra-buccale	(119) +++ (120) ++ (126) +	10 jours	40°C
122 124 136	voie intra-oculaire	(122) ++ (124) ++ (136) ++++	7 jours	40°C
128 137 152	voie intra-nasale	(128) +++ (137) + (152) +++	8 jours	40°C
121 125	"contact" des inoculés localement	(121) +++ (125) +	8 à 9 jours	40,2°C
148 149 160	voie intraveineuse	(148) + (149) ± (160) +	3 jours	39,5°C
129 130	"contact" des inoculés voie intraveineuse	(129) + (130) ++	5 à 6 jours	39,8°C

TABLEAU RECAPITULATIF

Voies d'inoculation	Pics thermiques	Numérations	Evolutions clinique - locale					Gravité	Lésions
			J3	J 7	J10	J 14	J 21		
intraveineuse (3)	1er J0 J1 2ème J2 J3		+ V	++ U		0		0	J11 P ++
contact IV (2)	1er J3 J4 2ème J6		+ V	U	+++	+	+	++ +	P
intra-nasale (3)	1er J1 ou J3 2ème J4 J5		+ V ++ U		+++	+	0	+++ +++ sacrifié	0 J8 P ++ F
intra-buccale (3)	1er J3 J4 2ème J6		V ++ U		+++	+	0	+ ++ +++	F P 0 P
intra-oculaire (3)	1er J2 J3 2ème J5 J6		+ V ++ U		+++	+	0	++ ++ ++++	P J11 P P
contact des voies locales	1er J3 2ème J6		+ V	++ U	++++		0 P	+++ +	P ++ 0

apparition de vésicules

max. des signes locaux et généraux

l'état général s'améliore

processus de cicatrisation

absence de cicatrices

1er pic J3 ; 2ème pic 2 jours après

P : Poumon
F : Foie
V : Vésicule
U : Ulcère

- Les animaux inoculés par voie intraveineuse sont très peu atteints.

- Leurs "contact" le sont davantage et après une période d'incubation plus longue que celle des animaux "contact" des inoculés localement. Dans le premier cas, il faut admettre une excrétion de virus par les animaux inoculés par voie intraveineuse. Cette excrétion nécessite que le virus soit véhiculé par le torrent circulatoire, qu'il se localise, se multiplie localement et soit excrété.

Dans le deuxième cas, chez les animaux inoculés localement, le virus se multiplie rapidement au niveau des portes d'entrée ; il est ainsi excrété directement. Les animaux "contact" sont alors contaminés. Les formes les plus graves sont observés chez les animaux "contact".

- Chez les animaux inoculés par voie locale, les voies intranasale et intra-oculaire sont responsables des affections les plus graves.

L'adsorption du virus est défavorisée dans la cavité buccale en raison des déglutitions.

L'inoculation intra-nasale n'a pas le monopole des atteintes pulmonaires.

2.1.5. Discussion

Comme GILLESPIE et SCOTT 1973 (11), nous avons constaté une évolution thermique biphasique. Notre premier pic apparaît 3 jours après l'inoculation, le leur, le lendemain de l'inoculation.

Contrairement à ces auteurs, nous n'avons pas obtenu de conjonctivite, ni de lésions pulmonaires massives.

Nous n'avons pas enregistré de mortalité. Tout se passe comme si la maladie qu'ils ont produite évoluait selon un mode suraigu et la notre selon un mode aigu.

Dans la mise au point d'une épreuve virulente, on pourrait étudier l'aggravation de la clinique par l'emploi d'un virus concentré.

2.1.6. Conclusion

L'affection respiratoire obtenue sur chatons de 2 mois par l'inoculation de F.C.V. 255 est caractérisée par :

. une incubation brève : 3 jours
. une atteinte locale maximale le 7ème jour
. une amélioration clinique située entre le 10ème et le 14ème jour.
. une guérison totale, 3 semaines après l'inoculation.

Nous considèrons qu'il y a une réponse thermique à partir de 39,2°C. L'évolution thermique, biphasique, s'accompagne du cortège habituel : abattement, inappétence.

Les manifestations locales prédominent au niveau des cavités nasale et buccale où nous avons observé des écoulements ainsi qu'une atteinte des muqueuses, évoluant dans la bouche, de la vésicule à l'ulcère.

En dehors de toute surinfection bactérienne, les lésions pulmonaires sont limitées.

La chute initiale des globules blancs, suivie d'une réponse immunitaire avec leucocytose, est en faveur d'une maladie générale. L'hyperplasie de la pulpe blanche de la rate et la taille du thymus soutiennent cette hypothèse.

L'expérimentation animale nous permet de rejeter la voie intraveineuse au profit des voies intranasale et intra-oculaire. Il est à noter que la gravité clinique est accrue chez les chatons "contact".

2.2. Résultats obtenus gâce aux laboratoires

2.2.1. Titrage du virus présent dans les écouvillons buccaux

La conclusion de l'étude clinique conduit à envisager l'exacerbation de la virulence par passage sur animal. Pour cela il faut disposer d'un matériel virulent ; or la salive représente un matériel commode. C'est pourquoi nous avons titré les virus présents dans les écouvillons buccaux.

	J 2	J 4	J 8	J 11	J 15	J 21
119 IB	4,7	4,5	4,5	4,1	1,7	1,7
120 IB	1,7	3,5	3,9	2,7	1,3	1,1
121 T	2,1	2,1	3,9	3,5	≤ 1,5	≤ 0,5
122 IO	3,3	3,9	3,3	2,1	1,9	3,3
124 IO	4,1	3,9	3,1	3,3	1,7	1,9
125 T	3,5	2,5	3,3	3,3	3,9	0,5
126 IB	2,1	2,1	2,3	2,5	2,7	1,7
128 IN	3,1	2,7	3,5	3,5	1,9	1,7
129 T IV	≤ 0,5	3,3	3,5	3,1	2,5	3,7
130 T IV	2,9	2,1	3,7	2,5	3,9	3,1
136 IO	4,7	4,3	4,9			
137 IN		2,3				
148 IV	1,1	3,3	2,9	3,3	2,7	1,7
149 IV	2,9	2,1	≤ 1,45			
152 IN	3,9	1,9	3,3			
160 IV	≤ 1,5	2,7	≤ 1,5	≤ 1,5	2,1	≤ 0,5

Il faut considérer les résultats transcrits ci-dessus comme qualitatifs. En effet, la quantité de salive prélevée est variable et d'autre part, la concentration du virus est modifiée par l'anesthésie (l'imalgène provoque une hypersalivation et donc une dilution du virus.

Commentaires

L'excrétion virale chez les animaux inoculés par voie intraveineuse est faible, d'apparition tardive (J 4) et de courte durée.

Chez leurs "contacts", elle se prolonge jusqu'à J 21.

Chez les animaux inoculés localement et leurs "contacts" l'excrétion est très rapide, intense, mais diminue dès J 15 pour s'annuler le plus souvent à J 21.

Remarque

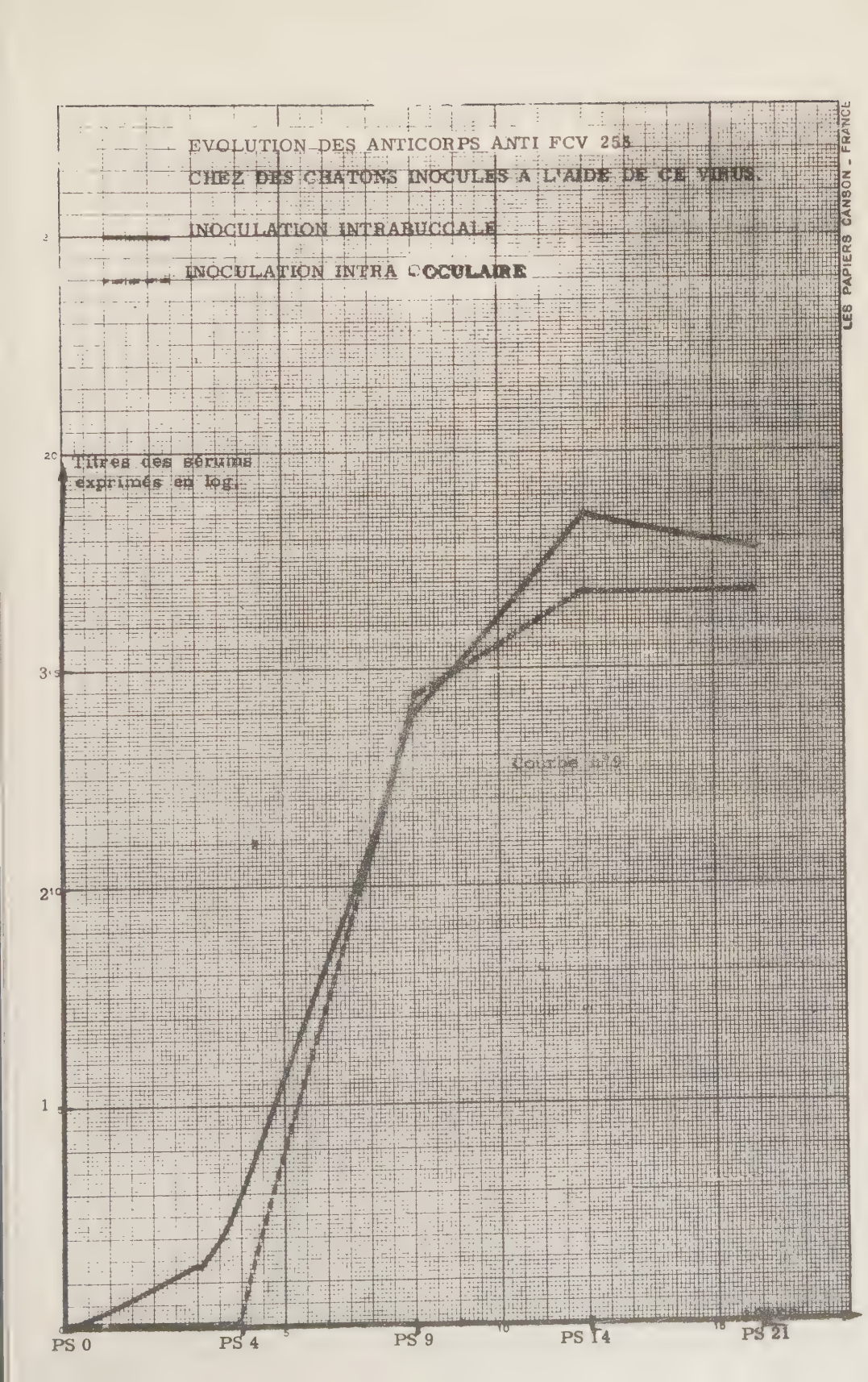
Chez des animaux infectés expérimentalement par des Calicivirus, l'excrétion virale semble limitée à la période d'expression clinique c'est-à-dire 15 à 20 après l'inoculation KAHN-GILLESPIE 1971 (14), POVEY et Coll. 1970 (25).

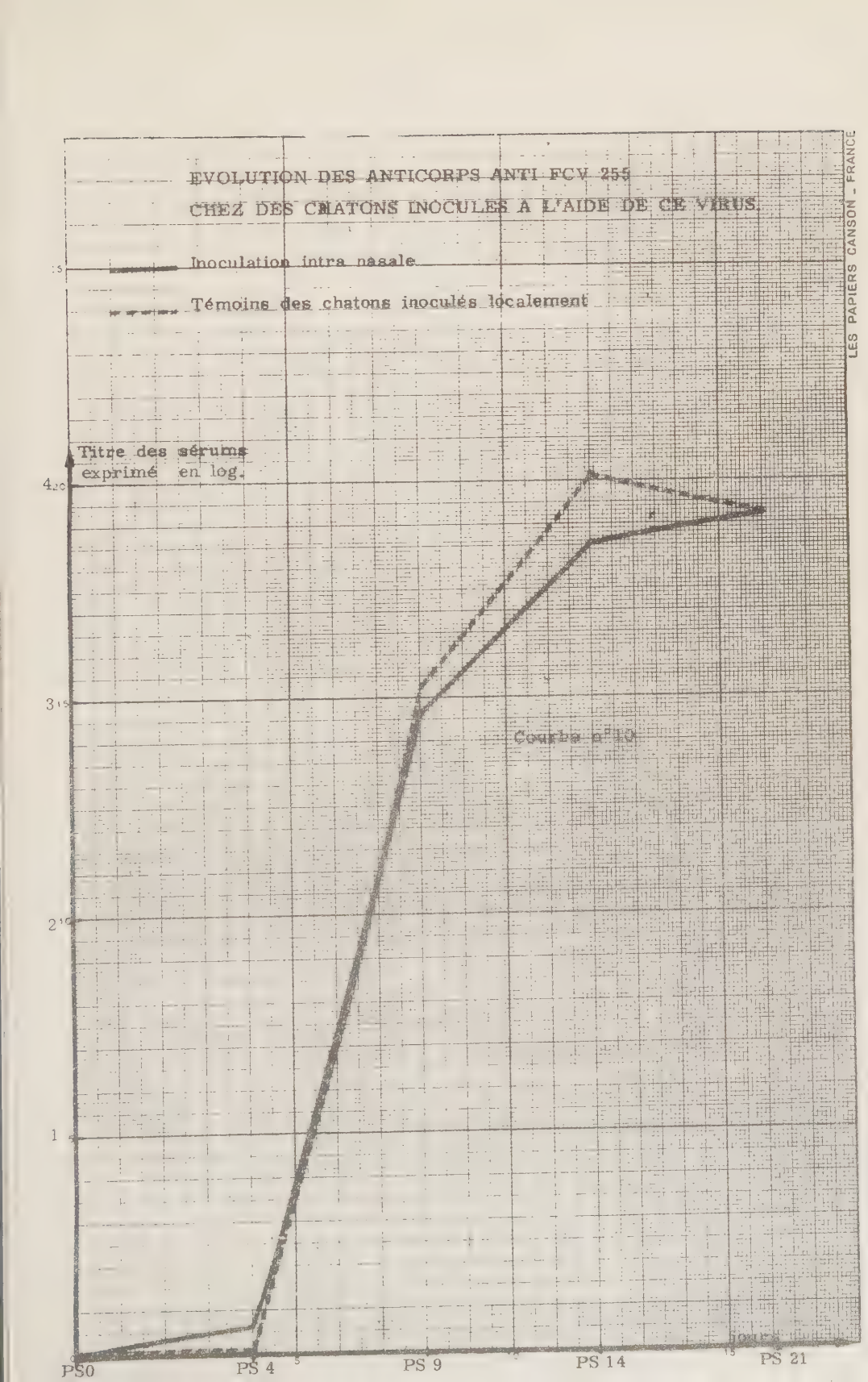
2.2.2. Titrage des sérums

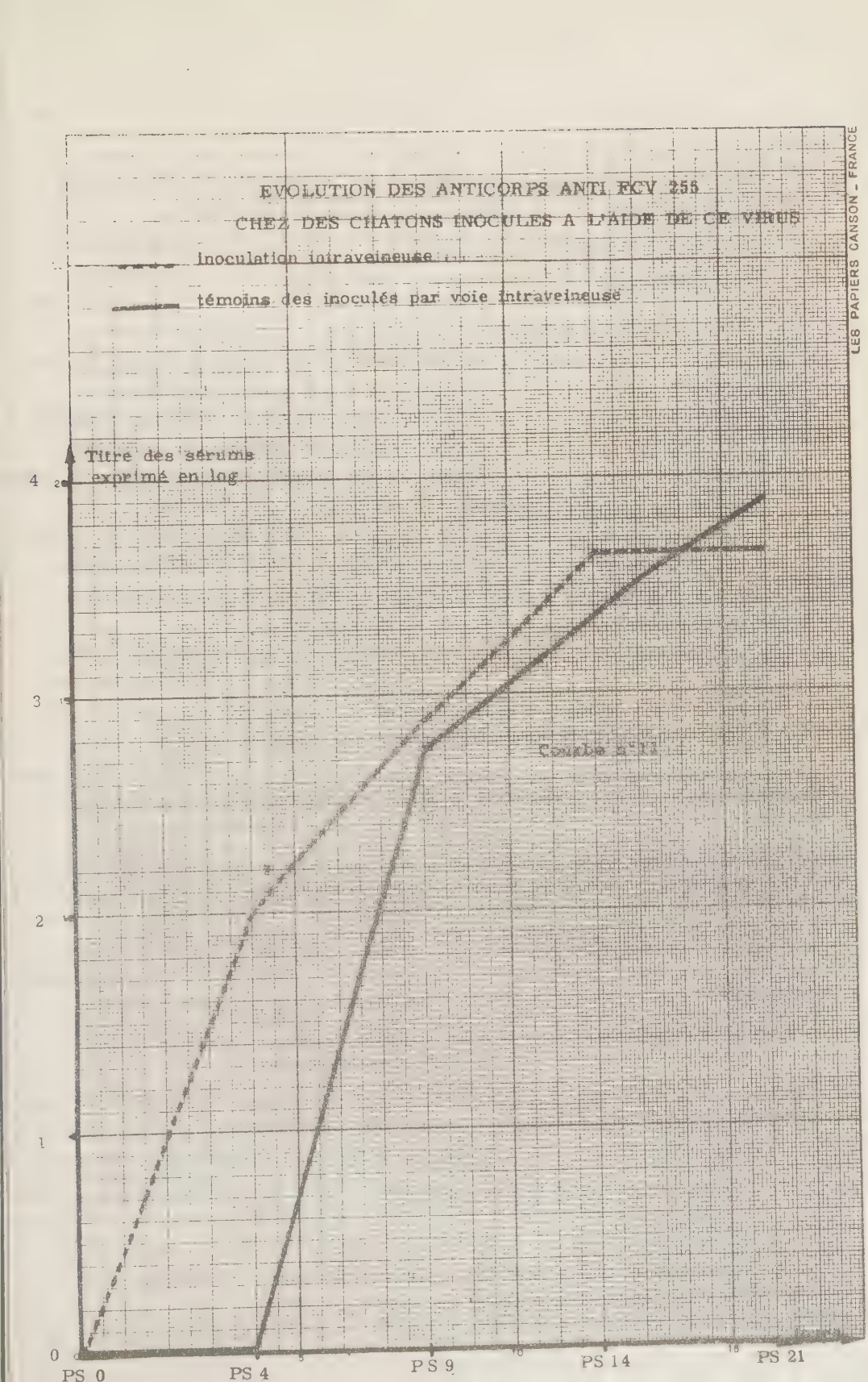
Partant d'un virus à 8,3, nous avons retrouvé 8,4 après un nouveau titrage ; le sérum négatif n'a pas neutralisé le virus. Le sérum positif titre 3,24 en moyenne.

	PS 0	PS 4	PS 9	PS 14	PS 21
119 IB	-	0,84	2,88	3,84	3,48
120 IB	-	-	2,64	3,0	3,48
121 T	-	-	3,12	4,12	3,6
122 IO	-	-	2,88	3,60	3,12
124 IO	-	-	2,88	3,12	3,6
125 T	-	-	3,0	3,96	4,12
126 IB	-	-	2,88	4,2	3,72
128 IN	-	-	3,12	3,72	3,84
129 T IV	-	-	2,40	3,36	3,84
130 T IV	-	-	3,12	3,12	3,96
136 IO	-	0,36	2,88		
137 IN	-	0,36			
148 IV	-	2,04	2,52	3,72	3,36
149 IV	-	2,16	3,0		
152 IN	-	-	2,76		
160 IV	-	1,80	3,12	3,60	3,96

Cf courbes 9, 10 et 11.


EVOLUTION DES ANTICORPS ANTI FCV 258
CHEZ DES CHATONS INOCULES A L'AIDE DE CE VIRUS.
INOCULATION INTRABUCCALE
INOCULATION INTRA OCULAIRE
Titres des sérums exprimés en log.
Courbe n°9
PS 0
PS 4
PS 9
PS 14
PS 21
LES PAPIERS CANSON - FRANCE


EVOLUTION DES ANTICORPS ANTI FCV 255
CHEZ DES CHATONS INOCULES A L'AIDE DE CE VIRUS.
Inoculation intra nasale
Témoins des chatons inoculés localement
Titre des sérums
exprimé en log.
4,0
3,5
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
Courbe n°10
PS0
PS 4
PS 9
PS 14
PS 21
LES PAPIERS CANSON - FRANCE


EVOLUTION DES ANTICORPS ANTI FCV 255
CHEZ DES CHATONS INOCULES A L'AIDE DE CE VIRUS
inoculation intraveineuse
témoins des inoculés par voie intraveineuse
Titre des sérums
exprimé en log
4
3
2
1
0
PS 0
PS 4
PS 9
PS 14
PS 21
LES PAPIERS CANSON - FRANCE

Normalement les titres en anticorps anticalicivirus oscillent entre 2 et 3, titres exprimés en log.

Nos résultats, toujours supérieurs à 3 s'expliquent par l'emploi d'une suspension virale comportant trop peu de particules infectieuses par ml. Le titre en anticorps est alors automatiquement surestimé.

Cependant, nos résultats sont interprétables puiqu'ils reflètent non pas des valeurs isolées mais une cinétique.

De plus le titre de 3,24 trouvé pour le sérum positif de référence, valide nos résultats. Cette valeur de 3,24 est inférieur à la plupart des titres des sérums provenant des animaux inoculés ; l'explication en est double :

- le sérum positif de référence est dirigé contre des calicivirus de souche F.C. (il existe une certaine neutralisation croisée entre tous les calicivirus) mais le titre de ce sérum vis-à-vis de la souche 255, sera plus faible.
- Le sérum positif de référence est obtenu par hyperimmunisation de chat à l'aide d'un vaccin. Nos sérums proviennent de chatons chez lesquels nous avons produit une affection grave à l'aide d'une souche particulièrement virulente.

Il est assez logique de penser que la réponse immunitair est supérieure lorsqu'elle fait suite à une maladie plutôt qu'à une vaccination.

Les animaux inoculés par voie intraveineuse ont réagi plus rapidement (J 4) que les animaux inoculés par voie locale(J 9

Tous les sérums sont nettement positifs au jour 9.

Les titres sont plus élevés au jour 14 ; ils commencent à décroître au jour 21 sauf chez les "contacts".

2.2.3. Observations histologiques

Ce travail initial a été réalisé pour produire des manifestations cliniques et pour comparer différentes voies d'inoculation. L'étiologie virale est étudiée par l'intermédiaire de la réponse sérologique et de l'excrétion virale. L'histologie permet d'explorer des lésions difficiles à interpréter lors de l'autopsie afin de préciser leur nature. Par contre, le faible nombre des prélèvements, doit conduire à des conclusions prudentes.

2.2.3.1. Lésions hépatiques du chaton 149 I.V. autopsié au jour J 10.

L'histologie a premis d'observer :

- quelques rares foyers réactionnels constitués par des cellules de Kuppfer activées et mobilisées.

- une infiltration très modérée de quelques espaces portobiliaires par des cellules mononucléées à prédominance lymphocytaire.

Ces lésions n'ont aucune spécificité.

L'hypothèse de l'ascaridose, difficile à confirmer, n'est pas démontrée.

Au risque d'être critiquée, cette observation isolée ne peut que mentionner un état réactionnel du tissu interstitiel du foie et susciter des travaux établissant une éventuelle relation entre l'administration par voie intraveineuse du virus et un retentissement hépatique.

2.2.3.2. Lésions pulmonaires

La difficulté de leur interprétation à l'autopsie nous a conduit à prélever des fragments de poumons en vue d'un diagnostic histopathologique.

Le faible nombre de prélèvements s'explique par la présence très limitée des lésions. C'est pourquoi nos conclusions seront étayées par les résultats d'auteurs tel LANGLOSS et coll. 1978 (17). Il est cependant possible de se fixer certains objectifs;

- Etudier l'évolution des lésions au cours du temps chez les chatons inoculés par voie intranasale.

- Evaluer la gravité de notre épreuve virulente par rapport à celle obtenue par les auteurs cités dans la partie bibliographique.

- Comparer l'intensité des lésions selon les voies d'inoculation.

2.2.3.2.1. Résultats

- Les préparations réalisées à partir du poumon du chaton 137 I.N. autopsié au jour J 4, nous permettent d'observer par ordre d'importance décroissante :

. de l'atélectasie, caractérisée par la réduction de la lumière alvéolaire à l'état de fente (cf photo n°5)

. de l'emphysème pour lequel l'alvéole est au contraire distendu.

. des épaississements localisés du septum interalvéolaire par une infiltration histiolymphocytaire à prédominance histiocytaire (cf photo n°6)

. l'absence de congestion

. des lésions limitées à quelques alvéoles dont la lumière renferme une sérosité, des polynucléaires et des macrophages.

- A partir du chaton 152 inoculé par voie intranasale, autopsié au jour J 8, nous constatons

. la prédominance des épaississements des septums, désormais très prononcés, mais toujours limités à des foyers circonscrits. Ils résultent d'une infiltration histiocytaire et lymphocytaire (cf photo n°7).

. une atélectasie et un emphysème

. une alvéolite catarrhale.

Cette lésion, observée le plus souvent lors d'atteinte virale, correspond à la présence de macrophages alvéolaires en très grande quantité dans les alvéoles.

. Concomitamment, une hyperplasie de l'épithélim de revêtement alvéolaire.

Ce phénomène de réparation est connu sous le nom d'épithélialisation. LANGLOSS, grâce à la microscopie électronique, a observé la destruction des pneumocytes de type I et la réparation de l'épithélium alvéolaire par la prolifération, parfois adénomateuse, des pneumocytes de type II.

. Parallèlement, de nombreuses mitoses et des cellules en voie de différenciation,caractérisées par un rapport nucléoplasmique élevé. Certaines cellules paraissent plurinucléées.

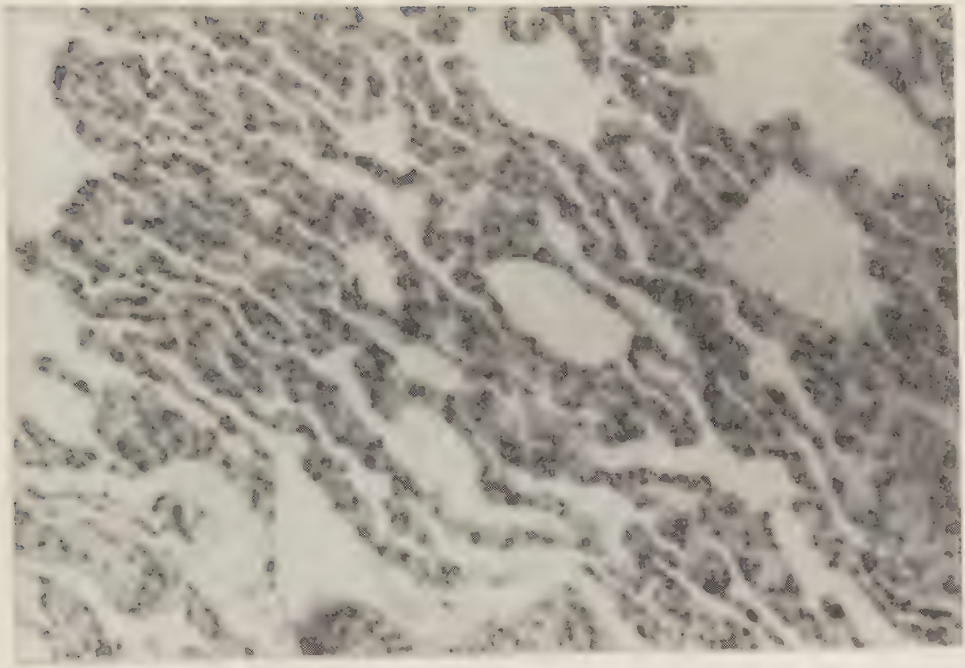


Photo n° 5 137 J4 G x 250 Atélectasie et emphysème

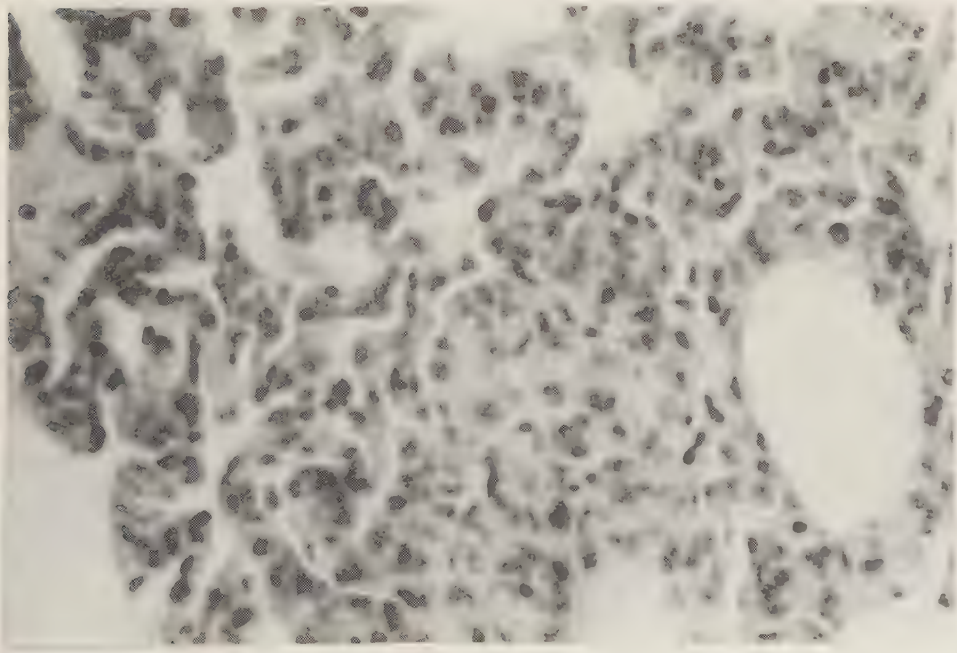


Photo n°6 137 J4 G x 400 Epaississement des septums par des cellules mononucléées

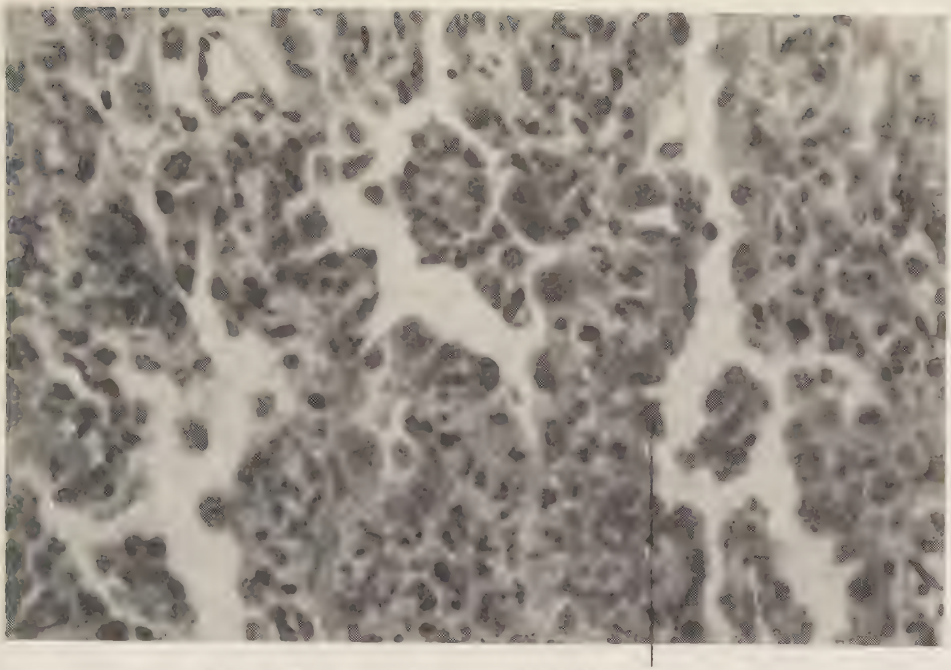


Photo n°7 152 J8 G x 400 Epithélialisation - Epaississement des cloisons interalvéolaires

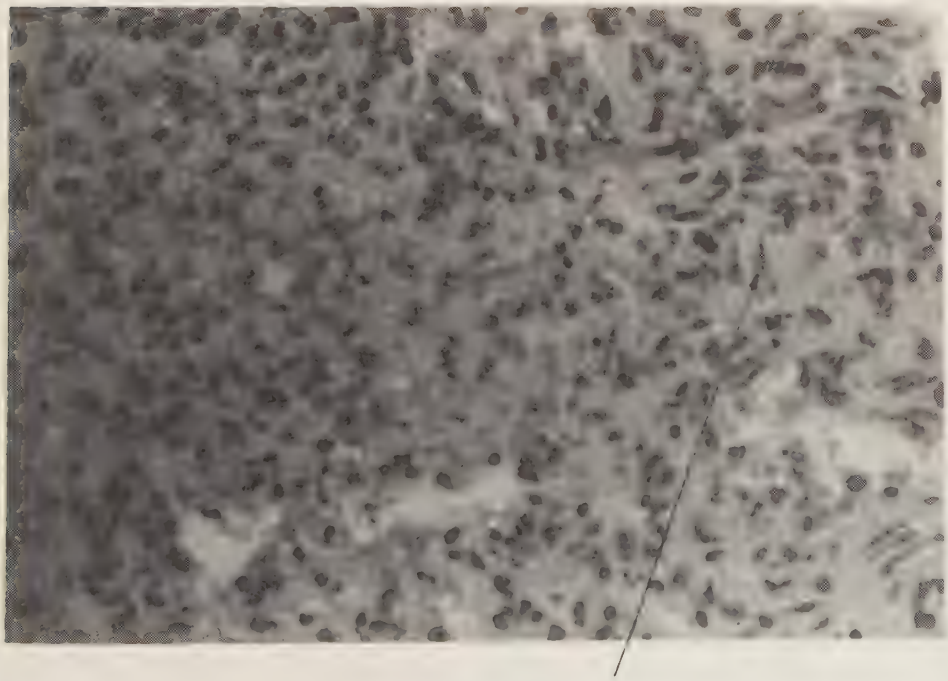


Photo n°8 121 J22 G x 400 Fibroblastes. Infiltration histiocytaire et fibroblastique des septums

- A partir du chaton 136 I.O. autopsié au jour J 10, nous avons noté des foyers d'épaississement septal de très petite taille et peu nombreux, séparés par des plages d'atélectasie et d'emphysème.

- A partir du chaton 149 I.V. autopsié au jour J 10, nous n'avons retrouvé que des lésions d'emphysème très marqué. (L'abondance des érythocytes situés dans les bronches et dans les alvéoles résulte de l'aspiration de sang au moment de la saignée).

- Chaton 121,"contact" des animaux inoculés par voie locale : l'atelectasie et l'emphysème persistent.

Il faut essentiellement retenir les volumineux foyers d'épaississements interalvéolaires qui procèdent d'une infiltration histiocytaire et fibroblastique (cf photo n°8). Quelques zones d'épithélialisation sont encore visibles.

2.2.3.2.2. Interprétation

Toutes lésions décrites correspondent à des lésions virales. Il est possible d'infirmer l'existence de surinfections bactériennes.

2.2.3.2.2.1. L'histologie permet de distinguer plusieurs phases :

- Jour J 4 : la réponse inflammatoire à prédominance cellulaire est précoce ; l'exsudat alvéolaire est très discret contrairement à celui décrit par LANGLOIS et coll. 1978 (17).

Dans notre expérimentation, l'épisode exsudatif probable est donc plus bref et moins important, ce qui peut traduire une atteinte d'un nombre inférieur de cellule de l'épithélium de revêtement alvéolaire.

De plus, si l'on tient compte de l'absence de lésions macroscopiques, on peut conclure que l'aggression virale est faible. Il est permis d'incriminer la suspension virale inoculée, quant à son titre, quant à la dose, quant à sa virulence, ou quant à la taille des gouttelettes de l'aérosol. (Il existe en effet une corrélation négative entre la taille des gouttelettes et la distance parcourue dans les voies respiratoires).

- Jour J 8 :

le processus de respiration évolue comme celui décrit par LANGLOSS.

- Jour J 22 :

Nous observons un stade tardif de ce même processus de réparation.

2.2.3.2.2.2. Comparaison des résultats en fonction des voies d'inoculation

- Quelle que soit la voie, des lésions pulmonaires sont constatées, ce qui confirme le pneumotropisme du virus.

- Les lésions pulmonaires observées sur le chaton 136 I.O. autopsié au jour J 10, sont comparables à celles du chaton 137 inoculé par aérosolisation et autopsié au jour J 4.

Tous se passe comme si le virus administré par aérosol se répliquait d'emblée au niveau de l'épithélium de revêtement alvéolaire, alors que le virus administré par voie locale se multiplierait initialement au niveau de la zone d'inoculation, avant d'atteindre les cellules sensibles du poumon. Cette dernière voie entraine une réponse plus lente que l'aérosolisation, laquelle de son côté s'est révélée efficace.

- Les conclusions sont identiques pour le chaton 149 I.V. autopsié au jour J 10. Les lésions, plus discrètes, pourraient s'expliquer par un phénomène de dilution dans le torrent circulatoire. La voie intraveineuse n'est pas recommandée pour réaliser une épreuve virulente.

- L'atteinte de l'appareil respiratoire supérieur et profond chez le chaton 121 "contact", prouve s'il en était besoin que les animaux malades excrètent le virus et contaminent les "contacts".

2.2.3.3. Conclusion

- Les lésions microscopiques produites par les Calicivirus n'ont aucune spécificité (les Calicivirus ne produisent pas d'inclusions intracellulaires).

L'histologie nous a permis de voir des lésions pulmonaires invisibles macroscopiquement, surtout de suivre l'évolution des lésions.

L'épreuve réalisée n'est pas très grave mais nous permet conjointement à la clinique de privilégier les voies intranasale et intra-oculaire.

2.3. Conclusions

Nous avons obtenu avec la souche F.C.V. 255 une calicivirose clinique. La souche est suffisamment virulente pour se multiplier aux divers points d'inoculation et pour s'étendre jusqu'à l'appareil respiratoire profond.

Cependant la discrètion des lésions pulmonaires nous incite à poursuivre dans le sens de l'aggravation clinique :

- en étudiant la relation dose-effet
- en essayant d'exacerber la clinique par passages successifs sur chatons sensibles.

La mise au point d'une épreuve virulente précède l'étape de la vaccination épreuve. Pour les instituts producteurs les deux éléments sont extrêmement liés : l'épreuve virulente doit s'adapter au niveau de protection assuré par le vaccin. En fonction de ces considérations et de nos résultats, les voies d'inoculation peuvent être jugées de la façon suivante.

- La voie intraveineuse et la voie intra-buccale sont à laisser de côté pour une épreuve virulente.
- La voie intra-oculaire est intéressante.
- La voie intra-pulmonaire à l'aide d'un aérosol présente des inconvénients :

. elle est artificielle, elle exagère la clinique

. notre nébuliseur n'est pas tout à fait satisfaisant puisque l'épithélium de revêtement alvéolaire, s'il est atteint précocément, ne présente que des lésions très limitées. Il semble que la taille des gouttelettes soit trop grande pour parvenir jusqu'aux alvéoles.

. Aucun vaccin actuel n'assure de protection locale au niveau pulmonaire. Ainsi après épreuve, il n'apparaitrait pas de différence entre les témoins et les vaccins.

- La voie intra-nasale par instillation est à étudier.

. Avec le vaccin actuel qui est administré par voie parentérale, des lésions des portes d'entrée du virus risquent d'apparaître. Elles seront probablement moins marquées. Par contre, les anticorps circulants bloqueront les virus avant qu'ils n'atteignent le poumon.

. Si à l'avenir le vaccin stimulant également l'immunité "locale" est mis au point, la différence entre les vaccinés éprouvés et les éprouvés sera encore plus significative.

Enfin il est possible pour codifier la clinique produite par l'inoculation de F.C.V. à des chatons, d'utiliser le système de quotation décrit par POVEY et WILSON 1978 (30) que nous allons exposer maintenant.

Les signes cliniques et l'isolement du virus seront recherchés pendant les trois semaines qui suivent l'inoculation.

Les signes cliniques seront comptabiliser tous les jours.

Les écouvillonnages pour isolement viral seront réalisés trois fois par semaine.

. Température : 1 point pour chaque 0,5°C au dessus de 39°4C.

. Eternuements : 1 point pour des éternuements occasionnels
2 points pour des éternuements fréquents ou en crise

. Ecoulements oculaires : 1 point pour chaque œil lors d'écoulement clair
2 points pour chaque œil lors d'écoulement purulent.

. Jetage nasal : idem

. Ulcères buccaux : 1 point pour chaque ulcère buccal ou lingual.

. Autres signes : salivation, toux : 1 point pour chaque.

. Isolement de virus.

1 point pour chaque échantillon quotidien avec des foyers dispersés d'E.C.P. après 48 heures.

2 points pour un E.C.P. presque complet.

Remarque : Nos observations personnelles nous amènent à penser qu'il faudrait systématiquement pratiquer des autopsies au bout de 14 jours ou de 3 semaines pour comptabiliser les foyers de pneumonie en attribuant par exemple 2 points par foyers.

CONCLUSIONS

Dans une première partie bibliographique, nous avons envisagé 'affection respiratoire à Calicivirus félins.

Nous avons rapporté les caractères virologiques, la clinique et son xpression de gravité variable, l'importance épidémiologique qui incite ctuellement à développer une vaccination pour la santé globale des chats. a mise au point d'une prophylaxie médicale repose sur la qualité des vaccin 'est pourquoi les instituts producteurs développent les contrôles d'activit

Ainsi nous avons participé à la mise au point d'une épreuve virulente ur chatons à l'aide d'une souche très pathogène de Calicivirus félins.

Dans une deuxième partie, nous avons exposé nos résultats concernant la roduction du virus d'épreuve et la réalisation d'une calicivirose expérimen ile.

En conclusion, la souche virale employée est intéressante, elle provoqu e calicivirose clinique. L'étude des différentes voies d'inoculation nous permis de choisir celle qui convient le mieux à un contrôle d'activité recte : il s'agit de la voie intranasale.

Enfin nous avons obtenu une certaine approche de la quantification pouvoir pathogène sur chatons.

Vu :
LE DIRECTEUR
de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,

~~Vu :~~
~~LE DOYEN,~~

LE PROFESSEUR RESPONSABLE
de l'École Nationale Vétérinaire,

Fontaine

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

Vu et permis d'imprimer .....

LYON, le 8 OCT. 1981 19
Pour le Président de l'Université
Le Premier Vice-Président,
Président du Comité de Coordination
des Etudes Médicales

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON I

Professeur R. MORNEX

B I B L I O G R A P H I E

1. BOLIN V.S.
The cultivation of panleucopenia virus in tissue culture.
Virology, (1957), 4, 389-390

2. BÜRKI F.
Picornaviruses of cats.
Arch. ges. Virusforsch. (1965), 15, 690-696

3. BÜRKI F.
Virologic and immunologic aspects of feline picornaviruses.
J.A.V.M.A. (1971), 158 (6), 916-921

4. BÜRKI F., STARUSTKA B., RUTTNER O.
Attemps to serologically classify feline caliciviruses on a rational and an international basis.
Infect. Immun. (1976), 14 (4), 876-881

5. CHAPPUIS G., STELLMANN C.
Etude sérologique des picornavirus félins : parenté - dominance des souches.
Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. Comparée. (1974), 76 (4), 289-299.

6. CHAPPUIS G.
Immunisation contre les maladies respiratoires du chat.
L'animal de compagnie (1979), 14,n°6, 595-601.

7. CRANDELL R.A., MADIN S.H.
Experimental studies on a new feline virus.
Am. J. Vet. Res. (1960), 21, 551-556

8. FASTIER L.B.
A new feline virus isolated in tissue culture
Am. J. Vet. Res. (1957), 18, 382-389

9. Federal register U.S.D.A. (1979), 44, n°34, 10073

10. GASKELL Rosalind M., WARDLEY R.C.
Feline viral respiratory disease : a review with particular reference to its epidemiology and control.
J. Small Anim. Pract. (1977), 19, 1-16

11. GILLESPIE J.H., SCOTT F.W.
Feline viral infections.
Advances in Vet. Sci. Comp. Med. (1973), 17, 163-200

12. HOOVER E.A., KAHN D.E.
Lesions produced by Feline Picornaviruses of different virulence in pathogen-free cats.
Vet. Path. (1973), 10, 307-322

13. KAHN D.E., GILLESPIE J.H.
Feline viruses. X. characterisation of a newly-isolated Picornavirus causing interstitial pneumonia and ulcerativ stomatitis in the domestic cat.
The Cornell Vet. (1970), 60 (4), 669-683

14. KAHN D.E., GILLESPIE J.H.
Feline viruses pathogenis of Picornavirus infection in the cat.
Am. J. Vet. Res., (1971), 32 n°4, 521-531

15. KAHN D.E., WALTON T.E.
Epizootologie of feline respiratory infections.
J.A.V.M.A.(1971), 158 n°6, 955-959

16. KAHN D.E., HOOVER E.A.
Infections respiratory diseases of cats.
Veterinary Clinics of North America, (1976), 6 n°3, 399-4

17. LANGLOSS J.M., HOOVER E.A., KAHN D.E.
Ultrastural morphogenesis of acute viral pneumonia produced by feline Calicivirus.
Am. J. Vet. Res. (1978), 39 n°10, 1577-1583

18. LAURENT J.C., OUDAR J., CHAPPUIS G.
Affections respiratoires félines d'origine virale. Sondage sérologique.
Revue Méd. Vét. (1977), 128, 1099-1110

19. LOVE D.N.
Pathogenicity of a strain of feline calicivirus for domestic kittens.
Aust. Vet. J. (1975), 51, 541-546

20. LOVE Daria N., SABINE Margaret
Electron microscopic observation of Feline Kidney Cells infected with a feline calicivirus.
Archives of Virology (1975), 48, 213-228

21. MELNICK J.L.
Taxonomy of viruses, 1978
Prog. Med. Virol. (1978), 24, 207-212

22. ORMEROD E., JARRETT O.
A classification of Feline calicivirus isolates based on plaque morphology.
J. Gen. Virol. (1978), 39 (3), 537-540

23. ORMEROD E., Mc CANDLISH I.A.P., JARRETT O.
Diseases produced by feline caliciviruses when administred to cats by aerosol or intranasal instillation.
The Veterinary Record (1979), 104 (4), 65-69

24. PASTORET P.P. et coll.
Aspects clinique et épidémiologiques.
Ann. Méd. Vét. (1977), 121, 39-42

25. POVEY R.C., JOHNSON R.H.
Observations on the epidemiology and control of viral respiratory disease in cats.
J. Small Anim. Pract. (1970), 11, 485-494

26. POVEY R.C., JOHNSON R.H.
A survey of feline viral rhinotracheitis and feline picornavirus infection in Britain.
J. Small Anim. Pract. (1971), 12, 233-247

27. POVEY R.C.
Serological relationships among feline caliciviruses.
Infect. Immunity (1974), 10 n°6, 1307-1314.

28. POVEY R.C.
Feline respiratory disease complex. Current veterinary therapy VI.
Small animal practise Kirk Ed. Sanders (1977) 1281-1287

29. POVEY R.C.
Feline respiratory disease - Which vaccine ?
Feline Practice (77) sept., 12-16

30. POVEY R.C., WILSON M.R.
A comparison of inactivated Feline Viral Rhinotracheïtis and Feline Caliciviral Disease vaccines with life-modified viral vaccines.
Feline Practice (1978), 8 n°3, 35-42

31. SCOTT F.W.
Feline immunisation.
Current veterinary therapy
Small animal Practice Kirk Ed. Sanders (1977), 1276-1281

32. STUDDERT M.J.
Caliciviruses brief review.
Archives of Virology (1978), 58, 157-191

33. WALTON T.E., GILLESPIE J.H.
Feline viruses VI. Survey of the incidence of feline pathogenic agents in normal and clinically-ill cats.
Cornell Vet. (1970), 60, 215-232

34. WARLEY R.C., GASKELL Rosalind M., POVEY R.C.
Feline respiratory viruses - their prevalence in clinically healthy cats.
J. small Anim. Practice (1974), 15, 579-586

35. WARDLEY R.C.
Feline calicivirus Carrier state. A study of the Host/Virus relationship.
Archives of Virology (1976), 52, 243-249

36. WARDLEY R.C., POVEY R.C.
The clinical disease and patterns of excretion associated with three different strains of feline caliciviruses.
Research in Veterinary Science (1976), 23, 7-14

37. WARDLEY R.C., POVEY R.C.
The pathology and sites of persistence associated with three different strains of feline calicivirus.
Research in veterinary science (1977), 23, 15-19

TABLE DES MATIERES

Pages

INTRODUCTION 1

PREMIERE PARTIE

A - HISTORIQUE 2

B - VIROLOGIE 5

1 - Morphologie 5
2 - Propriétés physico-chimiques 5
3 - Réplication 6
4 - Pouvoir immunigène 11
5 - Tentative de classification des souches de Calicivirus félins 12

C - CLINIQUE

1 - Définition 14
2 - Symptômes 14
3 - Lésions 18
4 - Diagnostic 23
5 - Traitement 27
6 - Pathogénie et portage 28

D - EPIDEMIOLOGIE

1 - Source des virus 30
2 - Réceptivité 32
3 - Transmission 33
4 - Voies de pénétration 33
5 - Remarques 33
6 - Conclusion 35

E - PROPHYLAXIE

1 - Prophylaxie sanitaire 36
2 - Prophylaxie médicale 37

F - CONCLUSION 43

Pages

DEUXIEME PARTIE

A - INTRODUCTION 44
Normes américaines du contrôle d'activité

B - PRODUCTION DU CALICIVIRUS D'EPREUVE 46

1 - Matériel et méthodes 46
1.1. Cultures cellulaires 46
1.2. Virus étudié F.C.V. 255 47
1.3. Etapes de la cinétique de croissance . . . 47
1.4. Titrage du virus 48

2 - Résultats 49
2.1. Cinétique sur C.R.F.K. au 173e passage . . 49
2.2. Cinétique sur C.R.F.K. au 26e passage . . 50
2.3. Cinétique sur cellules primaires de rein de chat 52

3 - Production du virus d'épreuve 54

4 - Conclusion 54

C - REALISATION EXPERIMENTALE D'UNE CALICIVIROSE SUR CHATONS 55

Introduction 55

1 - Moyens et méthodes 57
1.1. Animaux 57
1.2. Virus 57
1.3. Voies d'inoculation 57
1.4. Tableau récapitulatif des interventions sur sur les chatons 59
1.5. Titrage du virus présent dans les écouvillons 60
1.6. Titrage des sérums 60
1.7. Préparation des prélèvements en vue de l'histologie 61

2 - Résultats 62

2.1. Clinique 62

2.1.1. Symptômes et leur chronologie . . 62

2.1.2. Résultats quantifiables 66

2.1.3. Lésions 70

2.1.4. Comparaison de la gravité de l'évolution clinique en fonction de la voie d'inoculation 73

2.1.5. Discussion 75

2.1.6. Conclusion 76

2.2. Résultats obtenus grâce aux laboratoires. 77

2.2.1. Titrage du virus présent dans les écouvillons buccaux 77

2.2.2. Titrage des sérums 79

2.2.3. Observations histologiques 80

2.3. Conclusion 85

C O N C L U S I O N G E N E R A L E 87

B I B L I O G R A P H I E 88

T A B L E D E S M A T I E R E S 92

I. C. VAUBECOUR
l'Imprimerie des étudiants lyonnais
11 et 13 Rue Vaubecour
LYON 69002 - Tél. 42 - 45 - 85

I. C. VAUBECOUR
l'Imprimerie des étudiants lyonnais
11 et 13 Rue Vaubecour
LYON 69002 - Tél. 42 - 45 - 85